

TRADUCCIÓN

ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA

A quien corresponda:

DEPARTAMENTO DE COMERCIO - OFICINA DE PATENTES Y MARCAS

16 de septiembre de 2016

CERTIFICO QUE ADJUNTA A LA PRESENTE SE ENCUENTRA UNA COPIA FIEL DE LOS REGISTROS EN LA OFICINA DE PATENTES Y MARCAS DE LOS ESTADOS UNIDOS DE LOS DOCUMENTOS DE LA SOLICITUD DE PATENTE ABAJO IDENTIFICADA QUE REUNÍAN LOS REQUISITOS PARA LA ASIGNACIÓN DE UNA FECHA DE PRESENTACIÓN EN VIRTUD DE 35 USC 111.

SOLICITUD NÚMERO: 62/202.779

FECHA DE PRESENTACIÓN: 07 de agosto de 2015

El código de país y número de su solicitud de prioridad a ser utilizado para presentaciones en el exterior de acuerdo con el Convenio de París es: US62/202.779

En nombre del Funcionario a cargo de la Subsecretaría de Comercio, Propiedad Industrial e Intelectual y a cargo de la Oficina de Patentes y Marcas.
(Firmado) – P. R. GRANT – Certificaciones.

(La presente certificación se encuentra unida en forma inviolable a sus adjuntos y lleva una oblea dorada que dice): OFICINA DE PATENTES Y MARCAS - ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA.

(Adjuntos)

ACUSE DE RECIBO ELECTRÓNICO

ID EFS:	23155333
Número de solicitud:	62202779
Número de confirmación:	6606
Título de la invención:	CONSTRUCCIONES QUE TIENEN UN DOMINIO SIRP-ALFA O VARIANTES DE LAS MISMAS
Nombre del primer inventor:	Jaume PONS
Número de cliente:	21559
Presentado por:	Michael J. Belliveau/Samantha O'Neil
Autorizado por:	Michael J. Belliveau
N° de expediente de agente:	51073-003002
Fecha de recibo:	07/08/2015
Sello fechador:	23:18:23
Tipo de solicitud:	Provisional

Información sobre pago

Presentado conjuntamente con el pago:	Sí
Forma de pago:	Cuenta de depósito
Pago recibido en RAM:	\$130
Número de confirmación RAM:	6249
Número de cuenta de depósito:	032095
Usuario autorizado:	BELLIVEAU, MICHAEL J.

Se autoriza al Director de la USPTO a cobrar los aranceles indicados y acreditar cualquier pago en exceso de acuerdo con lo siguiente:

Cobrar cualquier arancel adicional requerido por el art 1.16 del CFR 37.
(Aranceles de presentación de solicitud nacional, búsqueda y examen)

Cobrar cualquier arancel adicional requerido por el art 1.17 del CFR 37.

(Aranceles de tramitación de la solicitud de patente y reexamen)

Cobrar cualquier arancel adicional requerido por el art 1.19 del CFR 37.

(Arancel por provisión de documento)

Cobrar cualquier arancel adicional requerido por el art 1.20 del CFR 37.

(Costos de envío postal)

Cobrar cualquier arancel adicional requerido por el art 1.21 del CFR 37. (Otros aranceles)

Listado de archivos

Descripción del documento	Nombre del archivo	Tamaño del archivo (Bytes)	Partes múltiples / .zip	Páginas (si corresp)
1. Dibujos delineados en blanco y negro solamente	Figures.PDF	146599	No	5
2. Página de datos técnicos de la solicitud	Application_Data_Sheet_Fillable_PDF.pdf	1819505	No	7
3. Carátula de solicitud provisional (SB16)	Provisional_Patent_Application_Transmittal_Fillable_PDF.pdf	1477737	No	3
4.	51073_003002_Application.pdf	316901	Sí	65

Descripción de partes múltiples/Archivos PDF en.zip descripción

Descripción del documento		Inicio	Fin	
Memoria descriptiva		1	33	
Reivindicaciones		34	64	
Resumen		65	65	
5. Cálculo del arancel (SB06)	fee-info.pdf	29812	No	2
Tamaño total en bytes: 3790554				

El presente recibo constituye un acuse de recibo de la USPTO en la fecha mencionada de los documentos mencionados, caracterizados por el solicitante e incluye cantidad de páginas si corresponde. Constituye una evidencia de recibo similar a MPEP 503.

Solicitudes nuevas de acuerdo con 35 USC 111. Si se presenta una solicitud nueva y la solicitud incluye los componentes necesarios para obtener una fecha de presentación (véase: 37 CFR 1,53 (b)(d) y MPEP 506), oportunamente se emitirá un recibo de presentación (37 CFR 1,54) y la fecha que aparece en este recibo será considerada la fecha de presentación de esta solicitud.

Etapas nacionales de una solicitud internacional de acuerdo con 35 U.S.C.371

Si se presenta a tiempo la etapa nacional de una solicitud internacional cumpliendo con las condiciones establecidas por 35 USC 371 y otros requerimientos aplicables oportunamente se emitirá un formulario PCT/DO/EO/903 indicando la aceptación de la solicitud como presentación de etapa nacional de acuerdo con 35 USC 371 además del recibo de presentación.

Presentación de una solicitud internacional nueva a la USPTO como oficina receptora

Si se presenta una solicitud internacional nueva y la solicitud internacional incluye los componentes requeridos para la asignación de una fecha de presentación internacional (véase art.11 PCT y 1810 MPEP), oportunamente se emitirá una notificación del número de solicitud internacional y fecha de presentación internacional (Formulario PCT/RO/105) sujeto a las prescripciones relacionadas con seguridad nacional y a la fecha que exhibe este acuse de recibo. El recibo determinará la fecha de presentación internacional de la solicitud.

Código del documento: TR.PROV

Descripción del documento: Formulario para solicitud provisional (SB16)

PTO/SB/16 (11-08)

FORMULARIO PARA SOLICITUD PROVISIONAL

La presente solicitud es para presentación de una SOLICITUD DE PATENTE PROVISIONAL bajo el CRF 37, art 1.53 (c)

INVENTOR/ES

Nombre	Apellido	Ciudad	Estado	País
Jaume	PONS	San Francisco	CA	EE.UU.
Laura	DEMING	Palo Alto	CA	EE.UU.
Corey	GOODMAN	Marshall	CA	EE.UU.
Título de la Invención:		CONSTRUCCIONES QUE TIENEN UN DOMINIO SIRP-ALFA O VARIANTES DE LAS MISMAS		
Expediente de agente número:				51073-003002
Dirección postal: Número de cliente para correspondencia:				21559
La invención no fue realizada por una dependencia del Gobierno de los Estados Unidos ni por contrato con una dependencia del Gobierno de los Estados Unidos.				
El solicitante reivindica el status de pequeña empresa según 1.27 CFR 37.				
ADVERTENCIA: El peticionante/solicitante queda advertido de evitar la presentación de información personal en los documentos presentados en una solicitud de patente pueda usurpaciones de identidad. La USPTO nunca solicita información personal tal como números de seguridad social, nros. de cuentas				

bancarias, o números de tarjetas de crédito (salvo en el formulario PTO-2038 de autorización para cheques o tarjetas de crédito presentado con fines de pago), con las peticiones o solicitudes. Si este tipo de información personal estuviera incluido en los documentos a presentar ante la USPTO, los peticionantes/solicitantes deberían considerar la eliminación de dicha información personal de los documentos antes de su presentación. El peticionante/solicitante queda advertido de que el registro de una solicitud de patente queda disponible al público después de la publicación de la solicitud (salvo si se presenta un pedido de no publicación bajo 37 CFR 1.213(a) se incluye en la solicitud) o emisión de la patente. Además, el registro de las solicitudes abandonadas también puede ponerse a disposición del público si la solicitud es citada en una solicitud publicada o en una patente otorgada (ver 37 CFR 1.14). Los formularios PTO.2038 para pago con tarjeta de crédito o cheque no se retienen en el expediente de la solicitud y por lo tanto no quedan a disposición del público.

FIRMAS:	Véase el art. 1.4(D) del CFR 37.	Fecha:	07/08/2015
Nombre:	Michael J. Belliveau, Ph.D.	Nº de matrícula:	52608

Esta información es requerida por el art. 1.51 del CFR 37. La misma es requerida para la obtención o mantenimiento de un beneficio relacionado con la presentación de una solicitud (y su procesamiento por parte de USPTO). La confidencialidad se rige por el art. 122 del USC 35 y 1.14 del CFR 37. Se estima que el llenado de la información insume ocho horas incluyendo recolección, preparación y presentación de la solicitud completa a la USPTO. El tiempo variará según diferencias individuales. Cualquier comentario

referido al tiempo requerido para completar este formulario y/o sugerencias que puedan facilitar su ejecución serán enviadas a Chief Information Officer, US Patent and Trademark Office. US Department of Commerce; PO Box 1450, Alexandria Va 22313-1450. No enviar aranceles o documentos con información a esta dirección. Envíense estos a: Commissioner for Patents, PO Box 1450 Alexandria VA 22313-1450. Este formulario solamente puede ser utilizado para EFS-WEB. Si el mismo se envía a la USPTO será objeto de demoras en la tramitación de la solicitud provisional.

LEY DE PRIVACIDAD

La Ley de Privacidad de 1974 (P.L. 93-579) requiere que se provea cierta información en relación con la presentación del formulario adjunto relacionado con una solicitud de patente o patente, De acuerdo con lo requerido por la Ley, le informamos que: (1) la autoridad general con respecto a la recopilación de esta información es U.S.C. 35 2 (b); (2) la presentación de la información es voluntaria; y (3) el propósito principal para el cual la Oficina de Patentes de los EE UU utilizará esta información es procesar y/o examinar la presentación de una solicitud de patente o patente, Si no se presentara la información requerida, existe la posibilidad de que a la Oficina de Patentes y Marcas no le sea posible procesar y/o examinar la presentación, lo cual puede tener como consecuencia la finalización de los procedimientos o el abandono de la solicitud o expiración de la patente.

La información provista por el solicitante en el presente formulario está destinada normalmente a lo siguiente:

1. La información del presente formulario recibirá tratamiento confidencial en la

medida que lo permita la Ley de Libertad de Información (552 del U.S.C. 5) y Ley de Privacidad (552a del U.S.C. 5), Los contenidos provenientes del sistema del registro pueden ser revelados al Departamento de Justicia a fin de determinar si la revelación de estos registros es requerida por la Ley de Libertad de Información;

2. Como procedimiento de rutina, es posible revelar un registro de este sistema de registros en el curso de la presentación de evidencia a una corte, magistrado o tribunal administrativo, incluyendo revelaciones al abogado oponente en el curso de las negociaciones;

3. Como procedimiento de rutina, es posible revelar un registro de este sistema de registros a un miembro de Congreso que presente una solicitud con referencia a un individuo al cual pertenecen los registros, cuando dicho individuo ha solicitado la colaboración del Miembro del Congreso con respecto al asunto al cual se refiere el registro;

4. Como procedimiento de rutina, es posible revelar un registro de este sistema de registros al un contratista de una Agencia que necesite de tal información a fin de redactar un contrato, Las personas que reciben la información deberán cumplir los requerimientos de la Ley de Privacidad de 1974, según sus enmiendas, de acuerdo con 552^a (m) del U.S.C.5;

5. Como procedimiento de rutina, es posible revelar a la Oficina de la Organización de la Propiedad Intelectual Mundial, una Solicitud Internacional presentada bajo el Tratado de Cooperación en Patentes que se encuentre en este sistema, de acuerdo con el Tratado de Cooperación en Patentes;

6. Como procedimiento de rutina, es posible revelar un registro de este sistema

de registros a otra dependencia federal para revisión por motivos de Seguridad Nacional (181 U.S.C 35) y para revisión de acuerdo con la Ley de Energía Atómica (218 (c) U.S.C. 42;

7. Como procedimiento de rutina, es posible revelar un registro de este sistema de registros al Administrador de Servicios Generales o la persona designada por el mismo, durante una inspección de los registros realizada por GSA como parte de la responsabilidad de la institución de recomendar mejoras en las prácticas de manejo de los registros y programas, de acuerdo con 2904 y 2906 del U.S.C. 44, Tales revelaciones se realizarán de acuerdo con las leyes de GSA que gobiernan la inspección de registros con dicho propósito y otras directivas pertinentes (es decir, GSA o Comercio), Tales revelaciones no serán utilizadas para efectuar resoluciones con respecto a individuos;

8. Como procedimiento de rutina, es posible revelar un registro de este sistema de registros al público luego de la publicación de la solicitud de acuerdo con 122(b) del U.S.C. 35 o de la emisión de una patente de acuerdo con 151 del U.S.C. 35, Además, normalmente es posible revelar al público un registro, con las limitaciones impuestas por 1,14 del CFR 37, si el registro fue presentado en una solicitud luego abandonada o cuya tramitación ha finalizado y que es mencionada como referencia por una solicitud publicada, una solicitud abierta a la inspección del público o una patente emitida;

9. Como procedimiento de rutina, es posible que se revele un registro de este sistema de registros a una entidad reguladora o judicial, federal o local si la USPTO considera que existe una violación o violación potencial de una ley o reglamento.

CONSTRUCCIONES QUE TIENEN UN DOMINIO SIRP-ALFA O VARIANTES DE LAS MISMAS

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La proteína reguladora de señales α (SIRP- α) es una proteína expresada ampliamente sobre la membrana de las células mieloides. La SIRP- α interactúa con CD47, una proteína que es expresada ampliamente sobre muchos tipos celulares en el cuerpo. La interacción de SIRP- α con CD47 impide la endocitosis de células “propias”, que de lo contrario serían reconocidas por el sistema inmunológico. Se observó que una gran expresión de la CD47 presente sobre las células tumorales, en la leucemia mieloide aguda (AML) y en varios cánceres de tumores sólidos, actúan como un factor de pronóstico negativo para la supervivencia. Se han explorado estrategias dirigidas a interrumpir la interacción entre CD47 y SIRP- α , tal como la administración de agentes que enmascaran ya sea la CD47 o la SIRP- α , como potenciales terapias anticáncer.

SÍNTESIS DE LA INVENCION

La presente invención se ocupa de construcciones de la proteína reguladora de señales α (SIRP- α) que son útiles, por ejemplo, para hacer blanco en una célula (por ejemplo, una célula de cáncer o una célula del sistema inmunológico), para aumentar la fagocitosis de la célula blanco, para eliminar las células T reguladoras, para matar células cancerígenas, y/o para tratar una enfermedad (por ejemplo, el cáncer) en un sujeto. Las construcciones SIRP- α incluyen un dominio D1 de SIRP- α o una variante del mismo. En algunas formas de realización, las construcciones SIRP- α incluyen un dominio D1 de SIRP- α o una variante del mismo y un dominio variable de

anticuerpo. Las construcciones de la invención tienen una inmunogenicidad mínima, una afinidad optimizada, y/o una farmacocinética optimizada con respecto a una SIRP- α de tipo salvaje. Las construcciones de la invención se unen con mayor afinidad a CD47 que una SIRP- α de tipo salvaje. La invención también presenta composiciones farmacéuticas y métodos de uso de las construcciones para tratar cánceres.

En un aspecto, la invención presenta una construcción de proteína reguladora de señales α (SIRP- α) que incluye a) un primer polipéptido que tiene la fórmula A-L-B; donde i) A incluye un dominio D1 de SIRP- α o una variante del mismo; ii) L es un conector; y iii) B incluye un primer monómero del dominio Fc; y b) un segundo polipéptido incluye, consiste en o consiste esencialmente en un segundo monómero del dominio Fc; donde el primer monómero del dominio Fc y el segundo monómero del dominio FC, se combinan para formar un dominio Fc, y donde el segundo polipéptido no incluye una porción que interactúa con un antígeno (por ejemplo, un dominio variable de anticuerpo).

En otro aspecto la invención se ocupa de una construcción SIRP- α que incluye a) un primer polipéptido que tiene la fórmula A-L-B; donde i) A incluye un dominio D1 de SIRP- α o una variante del mismo; ii) L es un conector; y iii) B incluye un primer monómero del dominio Fc; y b) un segundo polipéptido que tiene la fórmula A'-L'-B'; donde i) A' incluye un dominio variable de anticuerpo; ii) L' es un conector; y iii) B' incluye un segundo monómero del dominio Fc; donde el primer monómero del dominio Fc y el segundo monómero del dominio FC se combinan para formar un dominio Fc. En algunas formas de realización, el dominio variable de anticuerpo se dirige a un antígeno en una célula. En

algunas formas de realización, el antígeno está en una célula de cáncer. En algunas formas de realización, el dominio variable de anticuerpo se une a 5T4, AGS-16, ALK1, ANG-2, B7-H3, B7-H4, c-fms, c-Met, CA6, CD123, CD19, CD20, CD22, EpCAM, CD30, CD32b, CD33, CD37, CD38, CD40, CD52, CD70, CD74, CD79b, CD98, CEA, CEACAM5, CLDN18.2, CLDN6, CS1, CXCR4, DLL-4, EGFR, EGP-1, ENPP3, EphA3, ETBR, FGFR2, fibronectina, FR-alfa, GCC, GD2, glypican-3, GPNMB, HER-2, HER3, HLA-DR, ICAM-1, IGF-1R, IL-3R, LIV-1, mesotelina, MUC16, MUC1, NaPi2b, Nectin-4, Notch 2, Notch 1, PD-L1, PD-L2, PDGFR- α , PS, PSMA, SLTRK6, STEAP1, TEM1, VEGFR, CD25, CD27L, DKK-1, o CSF-1R. En algunas formas de realización, el dominio variable de anticuerpo no ha sido diseñado para unirse a una proteína humana.

En otro aspecto la invención se ocupa de una construcción SIRP- α que incluye a) un primer polipéptido que tiene la fórmula A-L-B; donde i) A incluye un dominio D1 de SIRP- α o una variante del mismo; ii) L es un conector; y iii) B incluye un primer monómero del dominio Fc; y b) un segundo polipéptido que tiene la fórmula A'-L'-B'; donde i) A' incluye una proteína terapéutica que no es un dominio variable de anticuerpo; ii) L' es un conector, y iii) B' incluye un segundo monómero del dominio Fc; donde el primer monómero del dominio Fc y el segundo monómero del dominio FC se combinan para formar un dominio Fc. En algunas formas de realización, la proteína terapéutica es una citoquina, una interleuquina, un antígeno, un esteroide, un agente antiinflamatorio o un agente inmunomodulador.

En otro aspecto la invención se ocupa de una construcción SIRP- α que incluye un polipéptido que tiene la fórmula A-L-B; donde i) A incluye un dominio D1 de SIRP- α o una variante del mismo; ii) L es un conector; y iii) B incluye un

monómero de dominio Fc. En algunas formas de realización, la construcción SIRP- α de este aspecto de la invención forma un homodímero.

En algunas formas de realización, el dominio D1 de SIRP- α tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 1-10.

En algunas formas de realización, la variante de un dominio D1 de SIRP- α tiene una secuencia de

EEEX₁QX₂IQPDKSVLVAAGETX₃TLRCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPG
RX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSDX₁₀TX₁₁RNNMDFSIRIGX₁₂ITX₁₃ADAGTYXCX₁₄KX₁₅RKGSPDDVEX₁₆KSGAGTELSVRAPKPS (SEQ ID N°: 11), donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o, I; X₃ es A o V; X₄ es A, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es L, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V; and X₁₆ es F o V; and donde la variante tiene al menos una sustitución de aminoácido con relación a un dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID N°: 1.

En algunas formas de realización, la variante tiene una secuencia de

EEGX₁QX₂IQPDKSVSVAAGESX₃ILHCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPG
RX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSDX₁₀TX₁₁RNNMDFSIRIGX₁₂ITX₁₃ADAGTYXCX₁₄KX₁₅RKGSPDDVEX₁₆KSGAGTELSVRAPKPS (SEQ ID N°: 14), donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o, I; X₃ es A o V; X₄ es A, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es L, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V; y X₁₆ es F o V; y donde la variante tiene al menos una sustitución de aminoácido

con relación a un dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID N°: 4.

En algunas formas de realización, la variante tiene una secuencia de

EEEX₁QX₂IQPDKFVLVAAGETX₃TLRCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPG
RX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSDX₁₀TX₁₁RNNMDFSIRIGX₁₂ITX₁₃ADAGTYXCX₁₄
KX₁₅RKGSPDDVEX₁₆KSGAGTELSVRKPS (SEQ ID N°: 15), donde X₁ es L,
I, o V; X₂ es V, L, o, I; X₃ es A o V; X₄ es A, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V,
o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es L, T, o G; X₁₁ es K o R;
X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₃ es P, A, C,
D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V;
and X₁₆ es F o V; y donde la variante tiene al menos una sustitución de
aminoácido con relación a un dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la
secuencia de SEQ ID N°: 5.

En algunas formas de realización, la variante tiene una secuencia de

EEEX₁QX₂IQPDKSVLVAAGETX₃TLRCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPG
RX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSDX₁₀TX₁₁RNNMDFPIRIGX₁₂ITX₁₃ADAGTYXCX₁₄
KX₁₅RKGSPDDVEX₁₆KSGAGTELSVRKPS (SEQ ID N°: 16),

donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o, I; X₃ es A o V; X₄ es A, I, o L; X₅ es I,
T, S, o F; X₆ es E, V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es L, T,
o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o
Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₄ es V o I;
X₁₅ es F, L, o V; y X₁₆ es F o V; y donde la variante tiene al menos una
sustitución de aminoácido con relación a un dominio D1 de SIRP- α de tipo
salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID N°: 6.

En algunas formas de realización, la variante tiene una secuencia de

EEEX₁QX₂IQPDKSVLVAAGETX₃TLRCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPG
 RX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSDX₁₀TX₁₁RNNMDFSIRISX₁₂ITX₁₃ADAGTYXCX₁₄
 KX₁₅RKGSPDDVEX₁₆KSGAGTELSVRKPS (SEQ ID N°: 19),

donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o, I; X₃ es A o V; X₄ es A, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es L, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V; y X₁₆ es F o V; y donde la variante tiene al menos una sustitución de aminoácido con relación a un dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID N°: 9.

En algunas formas de realización, la variante tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 11, 14-16, y 19, donde X₁ es L, I, o V. En algunas formas de realización, X₂ es V, L, o, I. En algunas formas de realización, X₃ es A o V. En algunas formas de realización, X₄ es A, I, o L. En algunas formas de realización, X₅ es I, T, S, o F. En algunas formas de realización, X₆ es E, V, o L. En algunas formas de realización, X₇ es K o R. En algunas formas de realización, X₈ es E o Q. En algunas formas de realización, X₉ es H, P, o R. En algunas formas de realización, X₁₀ es L, T, o G. En algunas formas de realización, X₁₁ es K o R. En algunas formas de realización, X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y. En algunas formas de realización, X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y. En algunas formas de realización, X₁₄ es V o I. En algunas formas de realización, X₁₅ es F, L, V. En algunas formas de realización, X₁₆ es F o V.

En algunas formas de realización, la variante incluye no más de diez sustituciones de aminoácidos con relación a un dominio D1 de SIRP- α de tipo

salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 1, 4-6, y 9.

En algunas formas de realización, la variante incluye no más de siete sustituciones de aminoácidos con relación a un dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 1, 4-6, y 9.

En algunas formas de realización, la variante se une a CD47 con una afinidad de unión por lo menos 10 veces mayor que el dominio de D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 1, 4-6, y 9.

En algunas formas de realización, la variante se une a CD47 con una afinidad de unión por lo menos 100 veces mayor que el dominio de D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 1, 4-6, y 9.

En algunas formas de realización, la variante se une a CD47 con una afinidad de unión por lo menos 1000 veces mayor que el dominio de D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 1, 4-6, y 9.

En algunas formas de realización, la variante de un dominio D1 de SIRP- α tiene una secuencia de

EEEX₁QX₂IQPDKSVSVAAGESX₃ILHCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPAR
X₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSEX₁₀TX₁₁RENMDFSISISX₁₂ITX₁₃ADAGTYCYCX₁₄K
X₁₅RKGSPDTEX₁₆KSGAGTELSVRKPS (SEQ ID N°: 12), donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o I; X₃ es A o V; X₄ es V, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es S, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V; y X₁₆ es

F o V; y donde la variante tiene al menos una sustitución de aminoácido con relación a un dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID N°: 2.

En algunas formas de realización, la variante de un dominio D1 de SIRP- α tiene una secuencia de

EEEX₁QX₂IQPDKSVSVAAGESX₃ILLCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPAR
X₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSEX₁₀TX₁₁RENMDFSISISX₁₂ITX₁₃ADAGTYCYCX₁₄K
X₁₅RKGSPDTEX₁₆KSGAGTELSVRKPS (SEQ ID N°: 13), donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o, I; X₃ es A o V; X₄ es V, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es S, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V; y X₁₆ es F o V; y donde la variante tiene al menos una sustitución de aminoácido con relación a un dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID N°: 3.

En algunas formas de realización, la variante de un dominio D1 de SIRP- α tiene una secuencia de

EEEX₁QX₂IQPDKSVSVAAGESX₃ILHCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPAR
X₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSEX₁₀TX₁₁RENMDFSISISX₁₂ITX₁₃ADAGTYCYCX₁₄K
X₁₅RKGSPDTEX₁₆KSGAGTELSVRGKPS (SEQ ID N°: 17), donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o, I; X₃ es A o V; X₄ es V, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es S, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V; and X₁₆ es F o V; and donde la variante tiene al menos una sustitución de aminoácido

con relación a un dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID N°: 7.

En algunas formas de realización, la variante de un dominio D1 de SIRP- α tiene una secuencia de

EEEX₁QX₂IQPDKSVSVAAGESX₃ILHCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPAR
X₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSEX₁₀TX₁₁RENMDFSISISX₁₂ITX₁₃ADAGTYCYCX₁₄K
X₁₅RKGSPDTEX₁₆KSGAGTELSVRKPS (SEQ ID N°: 20), donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o, I; X₃ es A o V; X₄ es V, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es S, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V; and X₁₆ es F o V; y donde la variante tiene al menos una sustitución de aminoácido con relación a un dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID N°: 10.

En algunas formas de realización, la variante tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 12, 13, 17, y 20, donde X₁ es L, I, o V. En algunas formas de realización, X₂ es V, L, o, I. En algunas formas de realización, X₃ es A o V. En algunas formas de realización, X₄ es V, I, o L. En algunas formas de realización, X₅ es I, T, S, o F. En algunas formas de realización, X₆ es E, V, o L. En algunas formas de realización, X₇ es K o R. En algunas formas de realización, X₈ es E o Q. En algunas formas de realización, X₉ es H, P, o R. En algunas formas de realización, X₁₀ es S, T, o G. En algunas formas de realización, X₁₁ es K o R. En algunas formas de realización, X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y. En algunas formas de realización, X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y. En

algunas formas de realización, X_{14} es V o I. En algunas formas de realización, X_{15} es F, L, o V. En algunas formas de realización, X_{16} es F o V.

En algunas formas de realización, la variante incluye no más de diez sustituciones de aminoácidos con relación a un dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 2, 3, 7, y 10.

En algunas formas de realización, la variante incluye no más de siete sustituciones de aminoácidos con relación a un dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 2, 3, 7, y 10.

En algunas formas de realización, la variante se une a CD47 con al menos una afinidad de unión 10 veces mayor que el dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 2, 3, 7, y 10.

En algunas formas de realización, la variante se une a CD47 con al menos una afinidad de unión 100 veces mayor que el dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 2, 3, 7, y 10.

En algunas formas de realización, la variante se une a CD47 con al menos una afinidad de unión 1000 veces mayor que el dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 2, 3, 7, y 10.

En algunas formas de realización, la variante de un dominio D1 de SIRP- α tiene una secuencia de

EEEX₁QX₂IQPDKSVLVAAGETX₃TLRCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPAR
X₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSEX₁₀TX₁₁RENMDFSISIX₁₂ITX₁₃ADAGTYXCX₁₄K
X₁₅RKGSPDTEX₁₆KSGAGTELSVRKPS (SEQ ID N°: 18), donde X_1 es L, I, o V; X_2 es V, L, o, I; X_3 es A o V; X_4 es A, I, o L; X_5 es I, T, S, o F; X_6 es E, V, o L; X_7 es K o R; X_8 es E o Q; X_9 es H, P, o R; X_{10} es S, T, o G; X_{11} es K o R; X_{12} es

N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X_{13} es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X_{14} es V o I; X_{15} es F, L, o V; y X_{16} es F o V; y donde I un dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID N°: 8.

En algunas formas de realización, la variante tiene la secuencia de SEQ ID N°: 18, donde X_1 es L, I, o V. En algunas formas de realización, X_2 es V, L, o, I. En algunas formas de realización, X_3 es A o V. En algunas formas de realización, X_4 es A, I, o L. En algunas formas de realización, X_5 es I, T, S, o F. En algunas formas de realización, X_6 es E, V, o L. En algunas formas de realización, X_7 es K o R. En algunas formas de realización, X_8 es E o Q. En algunas formas de realización, X_9 es H, P, o R. En algunas formas de realización, X_{10} es S, T, o G. En algunas formas de realización, X_{11} es K o R. En algunas formas de realización, X_{12} es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y. En algunas formas de realización, X_{13} es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y. En algunas formas de realización, X_{14} es V o I. En algunas formas de realización, X_{15} es F, L, o V. En algunas formas de realización, X_{16} es F o V.

En algunas formas de realización, la variante incluye no más de diez sustituciones de aminoácidos con relación al dominio de D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID N°: 8.

En algunas formas de realización, la variante incluye no más de siete sustituciones de aminoácidos con relación al dominio de D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID N°: 8.

En algunas formas de realización, la variante se une a CD47 con una afinidad de unión por lo menos 10 veces mayor que el dominio de D1 de SIRP-

α de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID N°: 8.

En algunas formas de realización, la variante se une a CD47 con una afinidad de unión por lo menos 100 - veces mayor que el dominio de D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID N°: 8.

En algunas formas de realización, la variante se une a CD47 con una afinidad de unión por lo menos 1000 veces mayor que el dominio de D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID N°: 8.

En algunas formas de realización, la variante de un dominio D1 de SIRP- α tiene una secuencia de

EEX₁X₂QX₃IQPKX₄VX₅VAAGEX₆X₇X₈LX₉CTX₁₀TSLX₁₁PVGPIQWFRG
AGPX₁₂RX₁₃LIYNQX₁₄X₁₅GX₁₆FPRVTTVSX₁₇X₁₈TX₁₉RX₂₀NMDFX₂₁IX₂₂IX₂₃X₂₄I
TX₂₅ADAGTYCYCX₂₆KX₂₇RKGSPDX₂₈X₂₉EX₃₀KSGAGTELSVRX₃₁KPS (SEQ ID
N°: 21), donde X₁ es E o G; X₂ es L, I, o V; X₃ es V, L, o, I; X₄ es S o F; X₅ es L
o S; X₆ es S o T; X₇ es A o V; X₈ es I o T; X₉ es H o R; X₁₀ es A, V, I, o L; X₁₁ es
I, T, S, o F; X₁₂ es A o G; X₁₃ es E, V, o L; X₁₄ es K o R; X₁₅ es E o Q; X₁₆ es H,
P, o R; X₁₇ es D o E; X₁₈ es S, L, T, o G; X₁₉ es K o R; X₂₀ es E o N; X₂₁ es S o
P; X₂₂ es S o R; X₂₃ es S o G; X₂₄ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R,
S, T, V, W, o Y; X₂₅ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o
Y; X₂₆ es V o I; X₂₇ es F, L, V; X₂₈ es D o está ausente; X₂₉ es T o V; X₃₀ es F o
V; and X₃₁ es A o G; y donde la variante tiene al menos una sustitución de
aminoácido con relación a un dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la
secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 1-10.

En algunas formas de realización, la variante tiene la secuencia de SEQ
ID N°: 21, donde X₁ es E o G. En algunas formas de realización, X₂ es L, I, o V.
En algunas formas de realización, X₃ es V, L, o, I. En algunas formas de

realización, X₄ es S o F. En algunas formas de realización, X₅ es L o S. En algunas formas de realización, X₆ es S o T. En algunas formas de realización, X₇ es A o V. En algunas formas de realización, X₈ es I o T. En algunas formas de realización, X₉ es H o R. En algunas formas de realización, X₁₀ es A, V, I, o L. En algunas formas de realización, X₁₁ es I, T, S, o F. En algunas formas de realización, X₁₂ es A o G. En algunas formas de realización, X₁₃ es E, V, o L. En algunas formas de realización, X₁₄ es K o R. En algunas formas de realización, X₁₅ es E o Q. En algunas formas de realización, X₁₆ es H, P, o R. En algunas formas de realización, X₁₇ es D o E. En algunas formas de realización, X₁₈ es S, L, T, o G. En algunas formas de realización, X₁₉ es K o R. En algunas formas de realización, X₂₀ es E o N. En algunas formas de realización, X₂₁ es S o P. En algunas formas de realización, X₂₂ es S o R. En algunas formas de realización, X₂₃ es S o G. En algunas formas de realización, X₂₄ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y. En algunas formas de realización, X₂₅ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y. En algunas formas de realización, X₂₆ es V o I. En algunas formas de realización, X₂₇ es F, L, V. En algunas formas de realización, X₂₈ es D o está ausente. En algunas formas de realización, X₂₉ es T o V. En algunas formas de realización, X₃₀ es F o V. En algunas formas de realización, X₃₁ es A o G.

En algunas formas de realización, la variante incluye no más de diez sustituciones de aminoácidos con relación a un dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 1-10.

En algunas formas de realización, la variante incluye no más de siete sustituciones de aminoácidos con relación a un dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 1-10.

En algunas formas de realización, la variante se une a CD47 con una afinidad de unión por lo menos 10 veces mayor que el dominio de D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-10.

En algunas formas de realización, la variante se une a CD47 con una afinidad de unión por lo menos 100 veces mayor que el dominio de D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-10.

En algunas formas de realización, la variante se une a CD47 con una afinidad de unión por lo menos 1000 veces mayor que el dominio de D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-10.

En algunas formas de realización, el dominio D1 de SIRP- α o variante del mismo no incluye la secuencia de
 EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLIPVGPIQWFRGAGPARELIYNQREG
 HFPRVTTVSETTRRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKFRKGSPDTEVKSGAG
 TELSVRAKPS (SEQ ID Nº: 22);
 EEEVQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTLTSLIPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQRQ
 GHFPRVTTVSEGTRRENMDFSISISNITPADAGTYYCIKFRKGSPDTEFKSGAG
 TELSVRAKPS (SEQ ID Nº: 23);
 EEEVQIIQPDKSVSVAAGESVILHCTITSLTPVGPIQWFRGAGPARLLIYNQREG
 PFPRVTTVSETTRRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKLRKGSPDTEFKSGAGT
 ELSVRAKPS (SEQ ID Nº: 24);
 EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLSPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQRQ
 GPFPRVTTVSEGTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCIKLRKGSPDTEFKSGAG
 TELSVRAKPS (SEQ ID Nº: 25);

EEEIQVIQPDKSVSVAAGESVIIHCTVTSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQRQ
GRFPRVTTVSEGTKRENMDFSISISNITPADAGTYCYVKVRKGSPDTEVKSGA
GTELSVRAKPS (SEQ ID N°: 26);

EEEVQIIQPDKSVSVAAGESIILHCTVTSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIY
NQREGRFPRVTTVSEGTRRENMDFSISISNITPADAGTYCYIKLRKGSPDTEFK
SGAGTELSVRAKPS (SEQ ID N°: 27);

EEEVQLIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQRE
GPFPRVTTVSEGTKRENMDFSISISNITPADAGTYCYIKFRKGSPDTEVKSGAG
TELSVRAKPS (SEQ ID N°: 28);

EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRVLIYNQRQ
GPFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYCYIKFRKGSPDDVEFKSGA
GTELSVRAKPS (SEQ ID N°: 29);

EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARLLIYNQRQG
PFPRVTTVSETTKRENMDFSISISNITPADAGTYCYVKFRKGSPDTEFKSGAGT
ELSVRAKPS (SEQ ID N°: 30);

EEEVQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQKQ
GPFPRVTTISETTRRENMDFSISISNITPADAGTYCYIKFRKGSPDTEFKSGAGT
ELSVRAKPS (SEQ ID N°: 31); o

EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLTPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQRQ
GPFPRVTTVSEGTRRENMDFSISISNITPADAGTYCYIKFRKGSPDTEVKSGAG
TELSVRAKPS (SEQ ID N°: 32).

En algunas formas de realización, el dominio D1 de SIRP- α o variante del mismo incluye además un dominio D2 de SIRP- α (por ejemplo, SEQ ID N°: 33) y/o un dominio D3 de SIRP- α (por ejemplo, SEQ ID N°: 34).

En algunas formas de realización, el primer y segundo monómeros del

dominio Fc incluyen sustituciones de aminoácidos que promueven la heterodimerización entre el primer y segundo monómeros del dominio Fc. En algunas formas de realización, el primer y segundo monómeros del dominio Fc incluyen una o más de las siguientes sustituciones de aminoácidos T366W, T366S, L368A, Y407V, T366Y, T394W, F405W, Y349T, Y349E, Y349V, L351T, L351H, L351N, L352K, P353S, S354D, D356K, D356R, D356S, E357K, E357R, E357Q, S364A, T366E, L368T, L368Y, L368E, K370E, K370D, K370Q, K392E, K392D, T394N, P395N, P396T, V397T, V397Q, L398T, D399K, D399R, D399N, F405T, F405H, F405R, Y407T, Y407H, Y407I, K409E, K409D, K409T, y K409I, en relación con la secuencia de IgG1 humana. En algunas formas de realización, el primer y segundo monómeros del dominio Fc incluyen diferentes sustituciones de aminoácidos. En algunas formas de realización, el primer monómero del dominio Fc incluye T366W. En algunas formas de realización, el segundo monómero del dominio Fc T366S, L368A, y Y407V. En algunas formas de realización, el primer monómero del dominio Fc incluye D399K. En algunas formas de realización, el segundo monómero del dominio Fc K409D.

En algunas formas de realización, el dominio Fc tiene una unión reducida al receptor Fcγ. En algunas formas de realización, el dominio Fc es de un anticuerpo IgG1 y el primer y/o segundo monómero de dominio Fc incluyen L14A, L15A, y G17A, en relación con la secuencia de SEQ ID N°: 35. En algunas formas de realización, el dominio Fc es un subtipo de un anticuerpo IgG2 o IgG4. En algunas formas de realización, el dominio Fc es un subtipo de un anticuerpo IgG2 incluye las sustituciones de aminoácidos A111S y P112S, en relación con la secuencia de SEQ ID N°: 36.

En algunas formas de realización, la construcción SIRP-α tiene una

inmunogenicidad mínima. En algunas formas de realización, la construcción SIRP- α tiene una afinidad optimizada con CD47. En algunas formas de realización, la construcción SIRP- α tiene una farmacocinética optimizada.

En otro aspecto la invención se ocupa de un método para preparar una construcción de SIRP- α de la invención. El método incluye: a) proveer una célula huésped que incluya moléculas de ácido nucleico que codifican los polipéptidos; b) expresar los polipéptidos en la célula huésped bajo condiciones que permitan la formación de la construcción SIRP- α y c) recuperar la construcción SIRP- α .

En otro aspecto, la invención abarca una célula huésped que expresa una construcción SIRP- α de la invención. La célula huésped incluye moléculas de ácido nucleico que codifican los polipéptidos, donde las moléculas de ácido nucleico se expresan en la célula huésped.

En otro aspecto la invención se ocupa de una composición farmacéutica que incluye una construcción SIRP- α de la invención y uno o más transportadores o excipientes farmacéuticamente aceptables. En algunas formas de realización, la construcción está en una cantidad farmacéuticamente eficaz.

En otro aspecto, la invención abarca un método para matar una célula cancerosa. El método incluye poner la célula cancerosa en contacto con una construcción de SIRP- α de la invención o una composición farmacéutica que incluye la construcción de SIRP- α .

En otro aspecto, la invención abarca un método para tratar una enfermedad asociada con la actividad de SIRP- α y/o CD47 en un sujeto. El método incluye administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de

una construcción de SIRP- α de la invención o una composición farmacéutica que incluye la construcción de SIRP- α .

En otro aspecto, la invención abarca un método para tratar una enfermedad asociada con la actividad de SIRP- α y/o CD47 en un sujeto. El método incluye: (a) determinar las secuencias de aminoácidos de SIRP- α del sujeto; y (b) administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una construcción de SIRP- α de la invención o una composición farmacéutica que incluye la construcción de SIRP- α ; en donde el dominio D1 de SIRP- α o variante del mismo presente en la construcción de la variante de SIRP- α tiene la misma secuencia de aminoácidos que la secuencia de una SIRP- α en el sujeto.

En otro aspecto, la invención abarca un método para tratar una enfermedad asociada con la actividad de SIRP- α y/o CD47 en un sujeto. El método incluye: (a) determinar las secuencias de aminoácidos de SIRP- α del sujeto; y (b) administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una construcción de SIRP- α de la invención; en donde la construcción SIRP- α tiene una inmunogenicidad mínima en el sujeto.

En algunas formas de realización, la enfermedad es cáncer. En algunas formas de realización, el cáncer se selecciona entre cáncer de tumor sólido, cáncer hematológico, leucemia mieloide aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia mieloide crónica, leucemia linfoblástica aguda, linfoma no Hodgkin, linfoma de Hodgkin, mieloma múltiple, cáncer de vejiga, cáncer de páncreas, cáncer de cuello uterino, cáncer de endometrio, cáncer de pulmón, cáncer de los bronquios, cáncer de hígado, cáncer de ovario, cáncer de colon y recto, cáncer de estómago, cáncer gástrico, cáncer de vesícula, cáncer con tumor del

estroma gastrointestinal, cáncer de tiroides, cáncer de cabeza y cuellos, cáncer orofaríngeo, cáncer de esófago, melanoma, cáncer de piel (no melanoma), carcinoma de células de Merkel, cáncer inducido por virus, neuroblastoma, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer renal, cáncer de células renales, cáncer de la pelvis renal, leucemia, linfoma, sarcoma, glioma, tumor de cerebro y carcinoma. En algunas formas de realización, el cáncer es un cáncer de tumor sólido, o un cáncer hematológico.

En algunas formas de realización, la enfermedad es una enfermedad autoinmune. En algunas formas de realización, la enfermedad inmunológica es una enfermedad autoinmune o una enfermedad inflamatoria. En algunas formas de realización, la enfermedad autoinmune o inflamatoria es esclerosis múltiple, artritis reumatoide, una espondiloartropatía, lupus eritematoso sistémico, una enfermedad inflamatoria o autoinmune mediada por anticuerpos, enfermedad de injerto versus huésped, sepsis, diabetes, psoriasis, aterosclerosis, síndrome de Sjogren, esclerosis sistémica progresiva, escleroderma, síndrome coronario agudo, reperusión isquémica, enfermedad de Crohn, endometriosis, glomerulonefritis, miastenia grave, fibrosis pulmonar idiopática, asma, síndrome de dificultad respiratoria aguda (ARDS), vasculitis o miositis autoinmune inflamatoria.

En otro aspecto, la invención abarca un método para aumentar injerto de células madre hematopoyéticas en un sujeto que incluye modular la interacción entre SIRP- α y CD47 en el sujeto mediante la administración al sujeto de una construcción de SIRP- α de la invención o una composición farmacéutica que incluye una construcción de SIRP- α .

En otro aspecto, la invención abarca un método para alterar una

respuesta inmunológica en un sujeto que incluye administrar al sujeto una construcción de SIRP- α de la invención o una composición farmacéutica que incluye una construcción de SIRP- α , alterando de esa manera la respuesta inmunológica en el sujeto. En algunas formas de realización, alterar la respuesta inmunológica incluye suprimir la respuesta inmunológica.

Definiciones

Según se usa en la presente, el término “dominio D1 de SIRP- α ” o “dominio D1” se refiere al dominio de la membrana distal, extracelular, de SIRP- α . El dominio D1 de SIRP- α está ubicado por el extremo N-terminal de una SIRP- α de tipo salvaje de longitud completa y media la unión a CD47. Las secuencias de aminoácidos de los dominios D1 se muestran en la Tabla 1.

Tal como se usa en la presente, el término “Variante D1 de SIRP- α ” se refiere a un polipéptido que incluye un dominio D1 de una SIRP- α de tipo salvaje y una o más sustituciones de aminoácidos en relación con la secuencia del dominio D1 de tipo salvaje. La variante D1 de SIRP- α muestra una mayor afinidad de unión a CD47 que SIRP- α de tipo salvaje o el dominio D1 de la misma. La variante SIRP- α tiene al menos una sustitución de aminoácido con relación a un dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje.

Según se usa en la presente, el término “dominio D2 de SIRP- α ” o “dominio D2” se refiere al segundo dominio extracelular de SIRP- α . El dominio D2 de la SIRP- α incluye aproximadamente los aminoácidos 119 a 220 de una SIRP- α de tipo salvaje de longitud completa.

Tal como se usa en la presente, el término “dominio D3 de SIRP- α ” o “dominio D3” se refiere al tercer dominio extracelular de SIRP- α . El dominio D3 de SIRP- α incluye aproximadamente los aminoácidos 221 a 320 de la longitud

total de SIRP- α

Tal como se usa en la presente, el término “dominio variable de anticuerpo” se refiere a las porciones de las cadenas liviana y pesada de un anticuerpo que incluyen secuencias de aminoácidos de las regiones de determinación de la complementariedad (CDR, por ejemplo, CDR L1, CDR L2, CDR L3, CDR H1, CDR H2 y CDR H3) y de las regiones marco (FR).

Tal como se usa en la presente, el término “enlace” se refiere a la unión entre dos elementos, por ejemplo, dominios de proteínas. Un enlace puede ser un enlace covalente o un espaciador. El término “unión” se refiere a un enlace químico, por ejemplo, un enlace amida o un enlace disulfuro, o cualquier tipo de vínculo creado a partir de una reacción química, por ejemplo, una conjugación química. El término “espaciador” se refiere a una unidad (por ejemplo, un polímero polietilenglicol (PEG)) o una secuencia de aminoácidos (por ejemplo, una secuencia de 1-200 aminoácidos) que ocurre entre dos polipéptidos o dominios polipeptídicos para proporcionar el espacio y/o flexibilidad entre los dos polipéptidos o dominios de polipéptidos. Un espaciador de aminoácidos es parte de la secuencia primaria de un polipéptido (por ejemplo, unida a los polipéptidos o dominios de polipéptidos separados a través del esqueleto del polipéptido). La formación de enlaces disulfuro, por ejemplo, entre dos regiones bisagra o dos monómeros del dominio Fc que forman un dominio Fc, no se considera un enlace.

Según se usa en la presente, el término “monómero del dominio Fc” se refiere a una cadena de polipéptidos que incluye el segundo y tercer dominios constantes del anticuerpo (C_{H2} y C_{H3}). En algunas formas de realización, el monómero del dominio Fc también incluye un dominio bisagra. El monómero

del dominio Fc puede ser cualquier isotipo de anticuerpo inmunoglobulina, incluyendo IgG, IgE, IgM, IgA o IgD. Adicionalmente, el monómero del dominio Fc puede ser un subtipo de la IgG (por ejemplo, IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3 o IgG4). Un monómero del dominio Fc no incluye ninguna porción de una inmunoglobulina que pueda actuar como una región de reconocimiento del antígeno, por ejemplo, un dominio variable o una región determinante de complementariedad (CDR). Los monómeros del dominio Fc pueden incluir tanto como diez cambios con respecto a una secuencia del monómero del dominio Fc de tipo salvaje (por ejemplo, 1-10, 1-8, 1-6, 1-4 sustituciones, adiciones o supresiones de aminoácidos) que alteran la interacción entre un dominio Fc y un receptor Fc. Los ejemplos de cambios adecuados son conocidos en el arte.

Según se usa en la presente, el término “dominio Fc” se refiere a un dímero de dos monómeros del dominio Fc. En el dominio Fc de tipo salvaje, los dos monómeros del dominio Fc se dimerizan por la interacción entre los dos dominios constantes C_H3 del anticuerpo, así como uno o más enlaces disulfuro que se forman entre los dominios bisagra de los dos monómeros del dominio Fc que se dimerizan. En algunas formas de realización, el dominio Fc se puede mutar para que le falten las funciones efectoras, lo cual es típico de un “dominio Fc muerto”. En determinadas formas de realización, cada uno de los monómeros del dominio Fc en un dominio Fc incluye las sustituciones de aminoácidos en el dominio constante C_H2 del anticuerpo para reducir la interacción o unión entre el dominio Fc y un receptor Fc_γ.

Tal como se usa en la presente, el término “polipéptido” describe un polímero único donde los monómeros son residuos de aminoácidos unidos entre sí por enlaces de amida. Un polipéptido incluye cualquier secuencia de

aminoácido que ocurra en la naturaleza, que sea recombinante o que sea producida sintéticamente.

Según se usa en la presente, el término “enfermedad asociada con la actividad de SIRP- α y/o CD47” se refiere a cualquier enfermedad o trastorno causado y/o relacionado con la actividad de SIRP- α y/o CD47. Por ejemplo, cualquier enfermedad o trastorno causado y/o relacionado con el aumento y/o la disminución de la actividad de SIRP- α y/o CD47. Los ejemplos de enfermedades asociadas con la actividad de SIRP- α y/o de CD47 incluyen, pero en un sentido no taxativo, cánceres y enfermedades inmunológicas (por ejemplo, enfermedades autoinmunes y enfermedades inflamatorias).

Según se usa en la presente, el término “cantidad terapéuticamente eficaz” se refiere a una cantidad de una construcción de SIRP- α de la invención o una composición farmacéutica que contiene una construcción de SIRP- α de la invención que sea eficaz para lograr el efecto terapéutico deseado en el tratamiento de un paciente que sufre de una enfermedad, tal como el cáncer, por ejemplo, un cáncer de tumor sólido o un cáncer hematológico. En particular, la cantidad terapéutica eficaz de la construcción de SIRP- α evita los efectos secundarios adversos.

Tal como se usa en la presente, el término “composición farmacéutica” se refiere a una formulación medicinal o farmacéutica que incluye un ingrediente activo, así como excipientes y diluyentes para permitir que el ingrediente activo se adecue al método de administración. La composición farmacéutica de la presente invención incluye componentes farmacéuticamente aceptables que son compatibles con el polipéptido. La composición farmacéutica puede estar en forma de comprimido o cápsula para

administración oral o en forma acuosa para la administración intravenosa o subcutánea

Según se usa en la presente, el término “porcentaje (%) de identidad” se refiere al porcentaje de residuos de aminoácidos (o de ácidos nucleicos) de una secuencia candidato, por ejemplo, una variante de la SIRP- α , que son idénticos a los residuos de aminoácidos (o ácidos nucleicos) de una secuencia de referencia, por ejemplo, un dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje, después de alinear las secuencias e introducir huecos, si fuera necesario, para lograr el porcentaje máximo de identidad (es decir, se pueden introducir huecos en una o ambas secuencias candidato y de referencia para un alineamiento óptimo y las secuencias no homólogas se pueden descartar a efectos comparativos). El alineamiento para determinar el porcentaje de identidad se puede efectuar de varias maneras que son propias del conocimiento en el arte, por ejemplo, usando un software para computadora disponible al público, tal como el software BLAST, ALIGN o Megalign (DNASTAR). Los especialistas en el arte pueden determinar los parámetros apropiados para medir el alineamiento, que incluyan cualquier algoritmo necesario para lograr un alineamiento máximo sobre la longitud completa de las secuencias que están siendo comparadas. En algunas formas de realización, el porcentaje de identidad de secuencias de aminoácidos (o de ácidos nucleicos) de una secuencia candidato dada por, con o contra una secuencia de referencia dada (que, como alternativa, se podría formular como una secuencia candidato dada que tiene o incluye un porcentaje determinado de identidad de secuencia de aminoácidos (o de ácidos nucleicos) por, con o contra una secuencia de referencia dada) se calcula de la siguiente manera:

$$100 \times (\text{fracción de } A/B)$$

donde A es el número de residuos de aminoácidos (o de ácidos nucleicos) calificados como idénticos en el alineamiento de la secuencia candidato y la secuencia de referencia, y donde B es el número total de residuos de aminoácidos (o de ácidos nucleicos) en la secuencia de referencia. En algunas formas de realización, en las cuales la longitud de la secuencia candidato no es igual a la longitud de la secuencia de referencia, el porcentaje de identidad de secuencias de aminoácidos (o de ácidos nucleicos) de la secuencia candidato con la secuencia de referencia no sería igual al porcentaje de identidad de secuencias de aminoácidos (o de ácidos nucleicos) de la secuencia de referencia con la secuencia candidato.

En formas de realización particulares, una secuencia de referencia alineada para su comparación con una secuencia candidato puede mostrar que la secuencia candidato presenta entre un 50% y un 100% de identidad por toda la longitud completa de la secuencia candidato o una porción seleccionada de residuos de aminoácidos (o ácidos nucleicos) contiguos de la secuencia candidato. La longitud de la secuencia candidato alineada con fines comparativos es de por lo menos un 30%, por ejemplo, por lo menos un 40%, por ejemplo, por lo menos un 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o 100% de la longitud de la secuencia de referencia. Cuando una posición en la secuencia candidato está ocupada por el mismo residuo de aminoácido (o de ácido nucleico) que en la posición correspondiente en la secuencia de referencia, entonces las moléculas son idénticas en dicha posición.

Según se usa en la presente, el término “afinidad” o “afinidad de unión” se refiere a la fuerza de la interacción de unión entre dos moléculas. En

general, la afinidad de unión se refiere a la fuerza de la suma total de interacciones no covalentes entre una molécula y su miembro de unión, tal como una variante de la SIRP- α de alta afinidad y CD47. A menos que se indique de otra manera, la afinidad de unión se refiere a la afinidad de unión intrínseca, que refleja una interacción 1:1 entre los miembros de un par de unión. La afinidad de unión entre dos moléculas habitualmente se describe por la constante de disociación (K_D) o la constante de afinidad (K_A). Dos moléculas que tienen una baja afinidad de unión entre sí generalmente se unen lentamente, tienden a disociarse fácilmente y presentan un valor de K_D grande. Dos moléculas que tienen una alta afinidad entre sí en general se unen fácilmente, tienden a permanecer unidas por más tiempo y presentan un valor de K_D pequeño. La K_D de dos moléculas que interactúan se puede determinar usando métodos y técnicas bien conocidas en el arte, por ejemplo, resonancia de plasmón superficial. La K_D se calcula como la relación de k_{off}/k_{on} .

Según se usa en la presente, el término “afinidad optimizada” o “afinidad de unión optimizada” se refiere a una fuerza optimizada de la interacción de unión entre una variante D1 de la SIRP- α y la CD47, en la cual, la construcción de la variante de SIRP- α se une primariamente, o con mayor afinidad, a una CD47 presente sobre las células en células cancerosas y no se une sustancialmente o se une con menor afinidad a la CD47 sobre las células en células no cancerosas. La afinidad de unión entre la variante D1 de SIRP- α y CD47 está optimizada de manera tal que la interacción no causa una toxicidad clínicamente relevante. En algunas formas de realización, a fin de lograr una afinidad de unión optimizada entre la variante D1 de SIRP- α y la CD47, se puede desarrollar una variante de SIRP- α que tenga una menor afinidad de

unión a CD47 que la máxima afinidad que se puede lograr.

Según se usa en la presente, el término “inmunogenicidad” se refiere a la propiedad de una proteína (por ejemplo, una proteína terapéutica) que causa una respuesta inmunológica en el huésped como si fuera un antígeno extraño. La inmunogenicidad de una proteína puede evaluarse in vitro de muchas maneras diferentes, en particular mediante ensayos de proliferación de células T in vitro (véase, por ejemplo, Jawa y col., *Clinical Immunology* 149: 534-555, 2013), algunas de las cuales se encuentran disponibles comercialmente (véase, por ejemplo, los servicios de ensayos de inmunogenicidad ofrecidos por Proimmune).

Según se usa en la presente, el término “inmunogenicidad mínima” se refiere a la inmunogenicidad de una proteína (por ejemplo, una proteína terapéutica) que fue modificada, es decir, mediante sustituciones de aminoácidos, para que sea menor (por ejemplo, por lo menos un 10%, 25%, 50% o 100% menos) de lo que hubiera sido antes de introducir las sustituciones de aminoácidos. Cuando se modifica una proteína (por ejemplo, una proteína terapéutica) para que tenga una inmunogenicidad mínima significa que no genera o genera muy poca respuesta inmunológica en el huésped aún cuando se trata de un antígeno extraño.

Según se usa en la presente, el término “farmacocinética optimizada” se refiere a que los parámetros asociados en general con la farmacocinética de una proteína se mejoran y modifican para producir una proteína optimizada para su uso in vitro y/o in vivo. Los parámetros que están asociados con la farmacocinética de una proteína son bien conocidos por un especialista, incluyendo, por ejemplo, la K_D , la valencia y la vida media. En la presente

invención, la farmacocinética de un polipeptido de la invención se optimiza para su interacción con la CD47 para su uso en un contexto terapéutico

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La FIG. 1 es una ilustración de una construcción SIRP- α que incluye un dominio D1 de SIRP- α o una variante del mismo unido a un primer monómero de dominio FC, que forma un dominio Fc con un segundo monómero del dominio Fc.

La FIG. 2 es una ilustración de una construcción SIRP- α que incluye un dominio D1 de SIRP- α o una variante unida a un primer monómero del dominio FC y un dominio variable de anticuerpo unido a un segundo monómero del dominio Fc, donde el primer monómero del dominio Fc y el segundo monómero del dominio FC se combinan para formar un dominio Fc.

La FIG. 3 es una ilustración de una construcción SIRP- α que incluye un dominio D1 de SIRP- α o una variante del mismo unido a un primer monómero de dominio FC y una proteína terapéutica unida a un segundo monómero del dominio Fc, donde el primer monómero del dominio Fc y el segundo monómero del dominio FC se combinan para formar un dominio Fc.

La FIG. 4A es una ilustración de una construcción SIRP- α que incluye un dominio D1 de SIRP- α o una variante del mismo unido a un primer monómero de dominio FC que tiene una mutación de botón, que forma un dominio Fc con un segundo monómero del dominio Fc que tiene una mutación de ojal.

La FIG. 4B es una ilustración de una construcción SIRP- α que incluye un dominio D1 de SIRP- α o una variante del mismo unido a un primer monómero de dominio FC que tiene una mutación de ojal, que forma un dominio Fc con un segundo monómero del dominio Fc que tiene una mutación de botón.

La FIG. 5A es una ilustración de una construcción SIRP- α que incluye un dominio D1 de SIRP- α o variante del mismo unido a un monómero de dominio Fc.

La FIG. 5B es una ilustración de una construcción SIRP- α que es un homodimero de una construcción que se ilustra en la FIG. 5A.

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención se ocupa de construcciones de la proteína reguladora de señales α (SIRP- α) que son útiles, por ejemplo, para hacer blanco en una célula (por ejemplo, una célula de cáncer o una célula del sistema inmune), para aumentar la fagocitosis de una célula blanco, para eliminar las células T reguladoras, para matar a una las células cancerosas, y/o para el tratamiento de una enfermedad (por ejemplo, una célula cancerígena) en el sujeto. Las construcciones SIRP- α incluyen un dominio D1 de SIRP- α o una variante del mismo. En algunas formas de realización, las construcciones SIRP- α incluyen un dominio D1 de SIRP- α o una variante del mismo y un dominio variable de anticuerpo. Las construcciones SIRP- α de la invención tienen una inmunogenicidad mínima, afinidad optimizada, y/o una farmacocinética optimizada con respecto a una. SIRP- α . de tipo salvaje.

I. Dominio D1 de SIRP- α o variante del mismo

La construcción de SIRP- α de la invención incluye un dominio D1 de SIRP- α o variante del mismo. Existen por lo menos diez variantes de la SIRP- α de tipo salvaje humana. Las secuencias de aminoácidos de los dominios D1 de las diez variantes de la SIRP- α de tipo salvaje humana se muestran en las SEQ ID N°: 1-10 (véase la Tabla 1). Un dominio D1 de SIRP- α tiene una secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 1-10. Una variante de un dominio D1 SIRP- α ,

mencionada o descrita en el presente documento como variante D1 de SIRP- α , incluye el dominio D1 de SIRP- α humana de tipo salvaje y una o más sustituciones de aminoácidos con respecto a los dominios D1 de tipo salvaje. En la Tabla 2 se enumeran las posibles sustituciones de aminoácidos en cada variante del dominio D1 (SEQ ID N°: 11-21). Una variante D1 de SIRP- α se une con una afinidad de unión a la CD47 mayor que la de un dominio D1 de SIRP- α humano de tipo salvaje. En algunas formas de realización, la variante D1 de SIRP- α se une a CD47 con una afinidad de unión optimizada, en la cual la variante D1 de SIRP- α se une primariamente o con mayor afinidad a la CD47 presente sobre células cancerosas y no se une sustancialmente o se une con menor afinidad a la CD47 presente sobre células no cancerosas. En algunas formas de realización, la afinidad de unión entre la variante D1 de SIRP- α y CD47 está optimizada de manera tal que la interacción no causa una toxicidad clínicamente relevante. En algunas formas de realización, la variante D1 de SIRP- α tiene una inmunogenicidad mínima. En algunas formas de realización, para administrarle a un sujeto una construcción de SIRP- α de la invención, la variante D1 de SIRP- α en la construcción comprende los mismos aminoácidos que los aminoácidos del polipéptido de SIRP- α en una muestra biológica del sujeto, excepto por los cambios de aminoácidos introducidos para aumentar la afinidad de la variante D1 de SIRP- α . Las técnicas y los métodos para generar las variantes D1 de SIRP- α de afinidad optimizada y determinar sus afinidades de unión a la CD47 se describen con más detalle en la presente.

En la Tabla 2 se enumeran las sustituciones de aminoácidos específicas en una variante D1 de la SIRP- α , con relación a cada secuencia de variantes del dominio D1. Una variante D1 de la SIRP- α puede incluir una o más (por

ejemplo, una, dos, tres, cuatro, cinco, etc) de las sustituciones enumeradas en la Tabla 2. En algunas formas de realización, una variante D1 de la SIRP- α incluye como máximo cinco sustituciones de aminoácidos con relación a un dominio D1 de tipo salvaje. Una variante D1 de la SIRP- α puede tener por lo menos 90% (por ejemplo, 90%, 92%, 95%, 97%, etc.) de identidad de secuencia de aminoácidos de una secuencia de un dominio D1 de tipo salvaje.

En algunas formas de realización, una variante D1 de la SIRP- α es una variante D1 quimérica de una SIRP- α que incluye una porción de dos o más variantes del dominio D1 de tipo salvaje (por ejemplo, una porción de una variante del dominio D1 de tipo salvaje y una porción de otra variante del dominio D1 de tipo salvaje). En algunas formas de realización, una variante D1 quimérica de SIRP- α incluye por lo menos dos porciones (por ejemplo, tres, cuatro, cinco, etc.) de las variantes del dominio D1 de tipo salvaje, en donde cada una de las porciones es de una variante diferente del dominio D1 de tipo salvaje. En algunas formas de realización, una variante D1 quimérica de SIRP- α también incluye una o más de las sustituciones de aminoácidos enumeradas en la Tabla 2.

Tabla 1. Secuencias de los dominios D1 de la SIRP- α de tipo salvaje

Variante 1 del dominio D1 de tipo salvaje (SEQ ID N°: 1)	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFR GAGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGN ITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS
Variante 2 del dominio D1 de tipo salvaje (SEQ ID N°: 2)	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLIPVGPIQWFR GAGPARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENMDFSISISN ITPADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGAGTELSVRAKPS

Variante 3 del dominio D1 de tipo salvaje (SEQ ID N°: 3)	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILLCTVTSLIPVGPIQWFR GAGPARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENMDFSISISN ITPADAGTYICVKFRKGSPDTEFKSGAGTELSVRAKPS
Variante 4 del dominio D1 de tipo salvaje (SEQ ID N°: 4)	EEGLQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTATSLIPVGPIQWFR GAGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGN ITPADAGTYICVKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS
Variante 5 del dominio D1 de tipo salvaje (SEQ ID N°: 5)	EEELQVIQPDKFLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFR GAGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGN ITPADAGTYICVKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS
Variante 6 del dominio D1 de tipo salvaje (SEQ ID N°: 6)	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFR GAGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFPIRIGN ITPADAGTYICVKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS
Variante 7 del dominio D1 de tipo salvaje (SEQ ID N°: 7)	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLIPVGPIQWFR GAGPARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENMDFSISISN ITPADAGTYICVKFRKGSPDTEFKSGAGTELSVRGKPS
Variante 8 del dominio D1 de tipo salvaje (SEQ ID N°: 8)	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFR GAGPARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENMDFSISISN ITPADAGTYICVKFRKGSPDTEFKSGAGTELSVRAKPS
Variante 9 del dominio D1 de tipo salvaje (SEQ ID N°: 9)	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFR GAGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRISN ITPADAGTYICVKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS
Variante 10 del dominio D1 de tipo salvaje (SEQ ID N°: 10)	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLIPVGPIQWFR GAGPARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENMDFSISISN ITPADAGTYICVKFRKGSPDTEFKSGAGTELSVRAKPS

Tabla 2. Sustituciones de aminoácidos en una variante D1 de la S1RP- α de

afinidad optimizada, con relación a cada variante del dominio D1

v1 del dominio D1 (SEQ ID N°: 11)	EEEX ₁ QX ₂ IQPDKSVLVAAGETX ₃ TLRCTX ₄ TSLX ₅ PV GPIQWFRGAGPGRX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSDX ₁₀ TX ₁₁ RNNMDFSIRIGX ₁₂ ITX ₁₃ A DAGTYCYCX ₁₄ KX ₁₅ RKGSPDDVEX ₁₆ KSGAGTELSVR AKPS
Sustituciones de aminoácidos con relación a la SEQ ID N°: 11	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =A, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =L, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₃ =P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₄ =V, I; X ₁₅ =F, L, V; X ₁₆ =F, V
v2 del dominio D1 (SEQ ID N°: 12)	EEEX ₁ QX ₂ IQPDKSVSVAAGESX ₃ ILHCTX ₄ TSLX ₅ PV GPIQWFRGAGPARX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSEX ₁₀ TX ₁₁ RENMDFSISISX ₁₂ ITX ₁₃ A DAGTYCYCX ₁₄ KX ₁₅ RKGSPDTEX ₁₆ KSGAGTELSVRA KPS
Sustituciones de aminoácidos con relación a la SEQ ID N°: 12	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =V, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =S, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₃ =P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₄ =V, I; X ₁₅ =F, L, V; X ₁₆ =F, V
v3 del dominio D1 (SEQ ID N°: 13)	EEEX ₁ QX ₂ IQPDKSVSVAAGESX ₃ ILLCTX ₄ TSLX ₅ PV GPIQWFRGAGPARX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSEX ₁₀ TX ₁₁ RENMDFSISISX ₁₂ ITX ₁₃ A DAGTYCYCX ₁₄ KX ₁₅ RKGSPDTEX ₁₆ KSGAGTELSVRA KPS
Sustituciones de aminoácidos con relación a la SEQ ID N°: 13	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =V, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =S, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₃ =P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₄ =V, I; X ₁₅ =F, L, V; X ₁₆ =F, V
v4 del dominio D1 (SEQ ID N°: 14)	EEGX ₁ QX ₂ IQPDKSVSVAAGESX ₃ ILHCTX ₄ TSLX ₅ PV GPIQWFRGAGPGRX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSDX ₁₀ TX ₁₁ RNNMDFSIRIGX ₁₂ ITX ₁₃ A DAGTYCYCX ₁₄ KX ₁₅ RKGSPDDVEX ₁₆ KSGAGTELSVR AKPS

Sustituciones de aminoácidos con relación a la SEQ ID N°: 14	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =A, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =L, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₃ =P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₄ =V, I; X ₁₅ =F, L, V; X ₁₆ =F, V
v4 del dominio D1 (SEQ ID N°: 15)	EEEX ₁ QX ₂ IQPDKFVLVAAGETX ₃ TLRCTX ₄ TSLX ₅ PV GPIQWFRGAGPGRX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSDX ₁₀ TX ₁₁ RNNMDFSIRIGX ₁₂ ITX ₁₃ A DAGTYCYCX ₁₄ KX ₁₅ RKGSPDDVEX ₁₆ KSGAGTELSVR AKPS
Sustituciones de aminoácidos con relación a la SEQ ID N°: 15	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =A, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =L, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₃ =P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₄ =V, I; X ₁₅ =F, L, V; X ₁₆ =F, V
v4 del dominio D1 (SEQ ID N°: 16)	EEEX ₁ QX ₂ IQPDKSVLVAAGETX ₃ TLRCTX ₄ TSLX ₅ PV GPIQWFRGAGPGRX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSDX ₁₀ TX ₁₁ RNNMDFPIRIGX ₁₂ ITX ₁₃ A DAGTYCYCX ₁₄ KX ₁₅ RKGSPDDVEX ₁₆ KSGAGTELSVR AKPS
Sustituciones de aminoácidos con relación a la SEQ ID N°: 16	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =A, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =L, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₃ =P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₄ =V, I; X ₁₅ =F, L, V; X ₁₆ =F, V
v7 del dominio D1 (SEQ ID N°: 17)	EEEX ₁ QX ₂ IQPDKSVSVAAGESX ₃ ILHCTX ₄ TSLX ₅ PV GPIQWFRGAGPARX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSEX ₁₀ TX ₁₁ RENMDFSISISX ₁₂ ITX ₁₃ A DAGTYCYCX ₁₄ KX ₁₅ RKGSPDTEX ₁₆ KSGAGTELSVRG KPS
Sustituciones de aminoácidos con relación a la SEQ ID N°: 17	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =A, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =S, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₃ =P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₄ =V, I; X ₁₅ =F, L, V; X ₁₆ =F, V
v8 del dominio D1 (SEQ ID N°: 18)	EEEX ₁ QX ₂ IQPDKSVLVAAGETX ₃ TLRCTX ₄ TSLX ₅ PV GPIQWFRGAGPARX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSEX ₁₀ TX ₁₁ RENMDFSISISX ₁₂ ITX ₁₃ A DAGTYCYCX ₁₄ KX ₁₅ RKGSPDTEX ₁₆ KSGAGTELSVRA KPS

Sustituciones de aminoácidos con relación a la SEQ ID N°: 18	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =A, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =S, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₃ =P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₄ =V, I; X ₁₅ =F, L, V; X ₁₆ =F, V
v9 del dominio D1 (SEQ ID N°: 19)	EEEX ₁ QX ₂ IQPDKSVLVAAGETX ₃ TLRCTX ₄ TSLX ₅ PV GPIQWFRGAGPGRX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSDX ₁₀ TX ₁₁ RNNMDFSIRISX ₁₂ ITX ₁₃ ADAGTYCYCX ₁₄ KX ₁₅ RKGSPDDVEX ₁₆ KSGAGTELSVR AKPS
Sustituciones de aminoácidos con relación a la SEQ ID N°: 19	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =A, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =L, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₃ =P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₄ =V, I; X ₁₅ =F, L, V; X ₁₆ =F, V
v10 del dominio D1 (SEQ ID N°: 20)	EEEX ₁ QX ₂ IQPDKSVSVAAGESX ₃ ILHCTX ₄ TSLX ₅ PV GPIQWFRGAGPARX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSEX ₁₀ TX ₁₁ RENMDFSISISX ₁₂ ITX ₁₃ ADAGTYCYCX ₁₄ KX ₁₅ RKGSPDTEX ₁₆ KSGAGTELSVRA KPS
Sustituciones de aminoácidos con relación a la SEQ ID N°: 20	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =V, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =S, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₃ =P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₄ =V, I; X ₁₅ =F, L, V; X ₁₆ =F, V
Pan dominio D1 (SEQ ID N°: 21)	EEX ₁ X ₂ QX ₃ IQPDKX ₄ VX ₅ VAAGEX ₆ X ₇ X ₈ LX ₉ CTX ₁₀ TSLX ₁₁ PVGPIQWFRGAGPX ₁₂ RX ₁₃ LIYNQX ₁₄ X ₁₅ GX ₁₆ FPRVTTVSX ₁₇ X ₁₈ TX ₁₉ RX ₂₀ NMDFX ₂₁ IX ₂₂ IX ₂₃ X ₂₄ ITX ₂₅ ADAGTYCYCX ₂₆ KX ₂₇ RKGSPDX ₂₈ X ₂₉ EX ₃₀ KSGAGTELSVR X ₃₁ KPS
Sustituciones de aminoácidos con relación a la SEQ ID N°: 21	X ₁ =E, G; X ₂ =L, I, V; X ₃ =V, L, I; X ₄ =S, F; X ₅ =L, S; X ₆ =S, T; X ₇ =A, V; X ₈ =I, T; X ₉ =H, R; X ₁₀ =A, V, I, L; X ₁₁ =I, T, S, F; X ₁₂ =A, G; X ₁₃ =E, V, L; X ₁₄ =K, R; X ₁₅ =E, Q; X ₁₆ =H, P, R; X ₁₇ =D, E; X ₁₈ =S, L, T, G; X ₁₉ =K, R; X ₂₀ =E, N; X ₂₁ =S, P; X ₂₂ =S, R; X ₂₃ =S, G; X ₂₄ =N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₂₅ =P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₂₆ =V, I; X ₂₇ =F, L, V; X ₂₈ =D o está ausente; X ₂₉ =T, V; X ₃₀ =F, V; y X ₃₁ =A, G

En algunas formas de realización, un dominio D1 de SIRP- α o variante

del mismo puede incluir un dominio D2 de SIRP- α (por ejemplo, SEQ ID N°: 33) y/o un dominio D3 de SIRP- α (por ejemplo, SEQ ID N°: 34). En algunas formas de realización, un dominio D1 de SIRP- α o variante del mismo en una construcción SIRP- α de la invención no incluye la secuencia de ninguna de SEQ ID NOS: 22-32.

En algunas formas de realización, la construcción SIRP- α de la invención incluye un dominio D1 de SIRP- α , o variante del mismo, no glicosilada. El dominio D1 de cada una de las diez proteínas humanas SIRP- α de tipo salvaje (SEQ ID NOS: 1 -10 en la Tabla 1) contiene un sitio de N-glicosilación potencial individual en el aminoácido N80 de la secuencia NaolTP. La expresión de un dominio D1 de SIRP- α en células de Ovario de Hámster Chino (CHO) resultó en una banda mayor de 16 kDa (no glicosilada) y una banda menor de peso molecular mayor que se eliminó por Endo H_f (véase, por ejemplo, Hatherley y col., J. Biol. Chem. 282:14567-14575, 2007). La Endo H_f es una proteína de fusión recombinante de Endoglycosidase H y proteína de unión a maltosa. La Endo H_f escinde dentro del núcleo de quitobiosa de alta manosa y algunos oligosacáridos híbridos de glicoproteínas N-conectadas. Esto implica que una prolina en la posición de aminoácido 83 puede reducir la eficacia de glicosilación, conduciendo a una proteína con diferentes grados de glicosilación y por lo tanto heterogeneidad. Para el desarrollo de fármacos, la heterogeneidad puede dar origen a desafíos en el desarrollo de procesos. Por lo tanto, para investigar la posibilidad de generar una forma homogénea, no glicosilada de una variante D1 de SIRP- α de alta afinidad, se puede mutar el aminoácido N80 de una variante D1 de SIRP- α de alta afinidad a Ala. En algunas formas de realización, para elaborar una variante D1 de SIRP- α de alta

afinidad no glicosilada, se puede reemplazar el aminoácido N80 de una variante D1 de SIRP- α de alta afinidad por cualquier aminoácido (o sea, cualquier aminoácido de origen natural), por ejemplo, N80A y N80Q.

En algunas formas de realización, la construcción SIRP- α de la invención incluye un dominio D1 de SIRP- α , o variante del mismo, totalmente glicosilada. Otra opción para incrementar la homogeneidad del producto final es aumentar la eficacia de glicosilación en el aminoácido N80 y generar una variante D1 de SIRP- α de alta afinidad totalmente glicosilada. El aminoácido P83 de la secuencia NITPs3 afecta el grado de glicosilación en el aminoácido N80. El cambio de P83 a cualquier aminoácido incrementará la eficacia de glicosilación en N80. En algunas formas de realización, el aminoácido P83 de una variante D1 de SIRP- α de alta afinidad se puede reemplazar por cualquier aminoácido (o sea, cualquier aminoácido de origen natural), por ejemplo, P83V, P83A, P83I, o P83L (por ejemplo, P83V).

II. Dominio variable de anticuerpo

En algunas formas de realización, las construcciones SIRP- α de la invención incluyen un dominio SIRP- α D1 o variante del mismo unido a un primer monómero de dominio Fc y dominio de anticuerpo variable unido a un segundo monómero de dominio Fc, donde el primer y segundo monómeros de dominio Fc se combinan para formar un dominio Fc. Un dominio variable de anticuerpo se refiere a las porciones de las cadenas liviana y pesada de un anticuerpo que incluyen secuencias de aminoácidos de las regiones determinantes de la complementariedad. (CDRs, por ejemplo, CDR L1, CDR L2, CDR L3, CDR H1, CDR H2, y CDR H3) y regiones marco (FR). Como se sabe convencionalmente en la técnica, el dominio variable del anticuerpo

confiere al anticuerpo la capacidad de unirse a antígenos específicos. Es posible construir muchas moléculas diferentes de dominios variables de anticuerpos mediante las técnicas disponibles en el arte. Las diferentes moléculas de dominios variables de anticuerpos que pueden usarse en la construcción SIRP- α incluyen no taxativamente una sola cadena Fv.

En algunas formas de realización, los dominios variables de anticuerpos utilizados en construcciones SIRP- α de la invención pueden dirigirse a las células cancerosas, por ejemplo, por unión a las proteínas expresadas por las células cancerosas. Algunas proteínas se expresan a niveles más altos en las células cancerosas que en las células no cancerosas. Por ejemplo, un antígeno de cáncer es una proteína que es expresada preferentemente por las células cancerosas (es decir, que se expresa a niveles más altos en las células cancerosas que en las células no cancerosas) y en algunos casos es expresado por las células cancerosas exclusivamente. Algunos ejemplos de proteínas, por ejemplo, las proteínas expresadas por las células cancerosas, que pueden ser el blanco de un dominio variable de anticuerpo en una construcción de SIRP- α de la invención incluyen no taxativamente 5T4, AGS-16, ALK1, ANG-2, B7-H3, B7-H4, c-fms, c-Met, CA6, CD123, CD19, CD20, CD22, EpCAM, CD30, CD32b, CD33, CD37, CD38, CD40, CD52, CD70, CD74, CD79b, CD98, CEA, CEACAM5, CLDN18.2, CLDN6, CS1, CXCR4, DLL-4, EGFR, EGP-1, ENPP3, EphA3, ETBR, FGFR2, fibronectina, FR-alfa, GCC, GD2, glipican-3, GPNMB, HER-2, HER3, HLA-DR, ICAM-1, IGF-1R, IL-3R, LIV-1, mesotelina, MUC16, MUC1, NaPi2b, Nectina-4, Notch 2, Notch 1, PD-L1, PD-L2, PDGFR- α , PS, PSMA, SLTRK6, STEAP1, TEM1, VEGFR, CD25, CD27L, DKK-1 y/o CSF-1R.

III. Construcción Biespecífica

En algunas formas de realización, la construcción SIRP- α es una construcción biespecífica. Un anticuerpo biespecífico se refiere a una construcción que tiene dos dominios de blanco interactivos. Una construcción biespecífica puede ser de cualquier isotipos de anticuerpos de inmunoglobulina, por ejemplo, IgG, IgE, IgM, IgA, o IgD. En la presente invención, la construcción biespecífica incluye un dominio Fc y dos dominios de blanco interactivos: (1)) un dominio D1 de SIRP- α o una variante del mismo y(2) un dominio variable de anticuerpo. La construcción biespecífica incluye un primer polipéptido y un segundo polipéptido. El primer polipéptido tiene la fórmula A-L-B, donde A incluye un dominio D1 de SIRP- α o una variante del mismo, L es un enlace y B incluye un primer monómero del dominio Fc. El segundo polipéptido tiene la fórmula A'-L'-B', donde A' incluye un dominio variable de anticuerpo, L' es un enlace y B' incluye un segundo monómero del dominio Fc. La orientación de los polipéptidos primero y segundo también puede ser B-L-A y B'-L'-A', respectivamente. El primer y segundo monómero del dominio Fc se combinan para formar el dominio Fc en la construcción biespecífica.

Un dominio D1 de SIRP- α tiene una secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-10. Una variante de un dominio D1 de SIRP- α incluye el dominio D1 de una SIRP- α humana de tipo salvaje y una o más sustituciones de aminoácidos con relación al dominio D1 de tipo salvaje. La tabla 1 lista posibles sustituciones de aminoácidos en cada dominio D1 de tipo salvaje. Una variante D1 de SIRP- α se une con mayor afinidad de unión a CD47 que un dominio de SIRP- α humana de tipo salvaje. El dominio variable de anticuerpo de la

construcción biespecífica se dirige al antígeno celular, por ejemplo, un antígeno celular en una célula de cáncer. En algunas formas de realización, el dominio variable de anticuerpo de la construcción biespecífica se une a 5T4, AGS-16, ALK1, ANG-2, B7-H3, B7-H4, c-fms, c-Met, CA6, CD123, CD19, CD20, CD22, EpCAM, CD30, CD32b, CD33, CD37, CD38, CD40, CD52, CD70, CD74, CD79b, CD98, CEA, CEACAM5, CLDN18.2, CLDN6, CS1, CXCR4, DLL-4, EGFR, EGP-1, ENPP3, EphA3, ETBR, FGFR2, fibronectina, FR-alfa, GCC, GD2, glipican-3, GPNMB, HER-2, HER3, HLA-DR, ICAM-1, IGF-1R, IL-3R, LIV-1, mesotelina, MUC16, MUC1, NaPi2b, Nectin-4, Notch 2, Notch 1, PD-L1, PD-L2, PDGFR- α , PS, PSMA, SLTRK6, STEAP1, TEM1, VEGFR, CD25, CD27L, DKK-1, o CSF-1R. En algunas formas de realización, el dominio variable de anticuerpo de la construcción biespecífica no se diseña para unión con una proteína humana.

Cada uno del primer y segundo monómeros del dominio en el dominio Fc de la construcción biespecífica puede incluir una o más sustituciones de aminoácidos que promueven la heterodimerización de los primer y segundo monómeros del dominio Fc. Los métodos para promover la heterodimerización del monómero del dominio Fc se describen aquí con más detalle, véase, por ejemplo, la estrategia de botón en ojal y la estrategia de atracción electrostática.

En algunas formas de realización, el dominio Fc de la construcción biespecífica se ha mutado para que carezca de una o más funciones efectoras, típicas de un "dominio Fc muerto." En ciertas formas de realización, el dominio Fc de la construcción biespecífica es de un anticuerpo IgG1 e incluye sustituciones de aminoácidos L14A, L15A, y G17A, en relación con la

secuencia de la SEQ ID N°: 35 para reducir la interacción o unión entre el dominio Fc y un receptor Fc γ . En ciertas formas de realización, la construcción biespecífica puede ser diseñada de manera que tenga unión preferencial a las proteínas (por ejemplo, receptores, por ejemplo, los receptores Fc) expresadas por diferentes tipos de células. Los estudios han demostrado que las sustituciones de aminoácidos en los dominios bisagra y/o constantes (por ejemplo, los dominios constantes CH2 y CH3) de un anticuerpo pueden alterar de manera eficiente las afinidades de unión del anticuerpo hacia los receptores específicos (por ejemplo, receptores Fc) expresados en diferentes tipos de células (por ejemplo, las células T reguladoras y células T efectoras) (véase, por ejemplo, Armour et al. (2003), *Molecular Immunology* 40:585-593, 2003, Armour et al. (1999), *Eur. J. Immunol.* 29:2613-2624, 1999, y Armour et al. (2002), [Biochem Soc Trans.](#) 30:495-500, 2002). Armour et al. (2003) ha demostrado que la IgG2 que tiene sustituciones de aminoácidos A111S y P112S (en relación con SEQ ID N°: 36) mostró una unión significativamente más reducida a FcR11a 131H que IgG2 de tipo salvaje. En ciertas formas de realización, una construcción biespecífica puede incluir un dominio Fc de subclase IgG2 o IgG4. Una construcción incluyendo un dominio Fc de una subclase IgG2 puede incluir sustituciones de aminoácidos A111S y P112S, en relación con la SEQ ID N°: 36.

IV. Dominio Fc

En ciertas formas de realización, una construcción SIRP- α de la invención incluye un dominio D1 de SIRP- α o una variante del mismo unido a un monómero de dominio Fc, que puede o no ser capaz de formar un dominio Fc con otro monómero del dominio Fc. En algunas formas de realización, una

construcción SIRP- α de la invención incluye un dominio D1 de SIRP- α o una variante del mismo unida a un primer monómero de dominio FC y un dominio variable de anticuerpo unido a un segundo monómero del dominio Fc, donde el primer y el segundo monómeros del dominio Fc se combinan para formar un dominio Fc. Tal como se estableció convencionalmente en el arte, un dominio Fc es una estructura proteica que se encuentra en C-terminal de una inmunoglobulina. Un dominio Fc incluye dos monómeros del dominio Fc que están dimerizados por la interacción entre los dominios constantes del anticuerpo CH3. Un dominio Fc de tipo salvaje forma la estructura mínima que se une a un receptor Fc, por ejemplo, Fc γ RI, Fc γ RIIA, Fc γ RIIB, Fc γ RIIIA, Fc γ RNIB, Fc γ RIV.

En ciertas formas de realización, el dominio Fc en una construcción de SIRP- α de la invención puede incluir sustituciones de aminoácidos, adiciones y/o supresiones que, por ejemplo, implican una reducción de la función efectora, por ejemplo, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC), disminución de la citólisis dependiente del complemento (CDC), y/o la fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP). El dominio Fc no está implicado directamente en la unión de un anticuerpo a su blanco, pero presenta diversas funciones efectoras, como la participación del anticuerpo en la toxicidad celular dependiente de anticuerpos. En ciertas formas de realización, las construcciones SIRP- α de la invención se caracterizan por disminución de la unión (es decir, ausencia de unión) al receptor Fc humano. En ciertas formas de realización, las construcciones SIRP- α de la invención se caracterizan por disminución de la unión (es decir, ausencia de unión) a Fc γ RI, Fc γ RIIA, Fc γ RIIB, Fc γ RIIIB, y/o Fc γ RIIIB humano. Para alterar o reducir una función

efectora dependiente de anticuerpos, tales como ADCC, CDC, y/o ADCP, los dominios Fc en construcciones SIRP- α de la invención pueden ser de la clase IgG e incluyen una o más sustituciones de aminoácidos E233, L234, L235, G236, G237, D265, D270, N297, E318, K320, K322, A327, A330, P331, y/o P329 (la numeración es de acuerdo con el índice EU de Kabat (Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991))).

Por ejemplo, un dominio Fc puede incluir sustituciones de aminoácidos específicas que se conoce minimizan la interacción entre el dominio Fc y un receptor Fc γ . En algunas formas de realización, un monómero de dominio Fc es de un anticuerpo IgG1 e incluye sustituciones de aminoácidos L234A, L235A, and G237A. En algunas formas de realización, un monómero de dominio es de un anticuerpo IgG2 or IgG4 e incluye sustituciones de aminoácidos A330S y P331S. Las posiciones de aminoácidos mencionadas anteriormente se definen de acuerdo con Kabat (Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)). La numeración de Kabat de residuos de aminoácidos se puede determinar para un anticuerpo dado por alineación de las regiones de homología de la secuencia del anticuerpo con una secuencia numerada “estándar” de Kabat.

En algunas formas de realización, un monómero del dominio Fc. es de un anticuerpo IgG1 e incluye sustituciones de aminoácidos L14A, L15A,y G17A, en relación con la secuencia de SEQ ID N°: 35. En algunas formas de realización, un dominio Fc puede incluir sustituciones de aminoácidos que pueden alterar de manera eficiente las afinidades de unión de un dominio Fc

hacia receptores específicos (por ejemplo, receptores Fc) que se expresan en diferentes tipos de células (por ejemplo, células T- reguladoras y células T- efectoras) (Véase, por ejemplo, Armour et al. (2003), *Molecular Immunology* 40:585-593, 2003, Armour et al. (1999), *Eur. J. Immunol.* 29:2613-2624, 1999, and Armour et al. (2002), [Biochem Soc Trans.](#) 30:l, 2002). Armour et al. (2003) ha mostrado que IgG2 con las sustituciones de aminoácidos A111S y P112S (con relación a SEQ ID N°: 36) presenta una reducción más significativa de la unión a FcγRIIIa 131H que el tipo salvaje IgG2. En algunas formas de realización, un dominio Fc en una construcción SIRP-α de la invención puede incluir un dominio Fc de subclase IgG2 o IgG4. En algunas formas de realización, un monómero del dominio Fc. es de un anticuerpo IgG2 o IgG4 e incluye sustituciones de aminoácidos A111S y P112S, en relación con la secuencia de SEQ ID N°: 36.

Las construcciones SIRP-α de la invención incluyen un dominio SIRP-α o una variante del mismo que tiene su C-terminal unido al N-terminal de un monómero de dominio FC por medio de un conector utilizando medios genéticos o químicos convencionales, por ejemplo, de conjugación química. Los ejemplos de conectores (por ejemplo, un espaciador) se describen en detalle en este documento. En ciertas formas de realización, el dominio D1 de SIRP-α o variante del mismo se une a un monómero de dominio Fc que es incapaz de formar un dominio FC o un dímero. En algunas formas de realización, el dominio D1 de SIRP-α o variante del mismo se une a un monómero de dominio Fc capaz de formar un dímero, por ejemplo, un heterodímero, con otro monómero del dominio Fc. Los métodos para formar heterodímeros de monómeros del dominio Fc se describen adicionalmente en

la presente documentación. En algunas formas de realización, un dominio D1 de SIRP- α o una variante del mismo se une a un monómero de dominio Fc y esta proteína de fusión puede formar un homodímero. En algunas formas de realización, un dominio D1 de SIRP- α o una variante del mismo se une a un primer monómero del dominio Fc y una proteína terapéutica (por ejemplo, una citoquina, una interleuquina, un antígeno, un esteroide, un agente antiinflamatorio o un agente inmunomodulador) se une a un segundo monómero del dominio Fc, donde los primer y segundo monómeros del dominio Fc pueden formar un heterodímero.

Heterodimerización de monómeros de dominio Fc

En algunas formas de realización, cada uno de los dos monómeros de dominio Fc en un dominio Fc incluye sustituciones de aminoácidos que promueven la heterodimerización de los dos monómeros. La heterodimerización de monómeros de dominio Fc puede ser promovida por la introducción de sustituciones diferentes, pero compatibles, en los dos monómeros de dominio Fc, tales como los pares de residuos “botón en ojal” y pares de residuos cargados. El uso de pares de residuos “botón en ojal” se describe en Carter y colaboradores (Ridgway y col., *Protein Eng.* 9:617-612, 1996; Atwell y col., *J Mol Biol.* 270:26-35, 1997; Merchant y col., *Nat Biotechnol.* 16:677-681, 1998). La interacción botón en ojal favorece la formación de heterodímero, mientras que la interacción botón-botón y ojal-ocal impide la formación del homodímero debido a colisiones estéricas y la eliminación de interacciones favorables. La técnica “botón en ojal” también se describe en la Publicación de Solicitud de Patente de los EE.UU. No. 8.216.805, Merchant y col., *Nature Biotechnology* 16:677-681, 1998 y Merchant

y col., Proc Natl Acad Sci U S A. 110:E2987–E2996, 2013, cada una de las cuales se incorpora en su totalidad a modo de referencia a la presente. Un ojal es un hueco que se crea cuando se reemplaza un aminoácido original en una proteína por un aminoácido diferente que tiene un volumen de cadena lateral más pequeño. Un botón es una saliente que se crea cuando se reemplaza un aminoácido original en una proteína por un aminoácido diferente que tiene un volumen de cadena lateral más grande. Específicamente, el aminoácido que está siendo reemplazado está en el dominio constante del anticuerpo C_H3 de un monómero de dominio Fc y está involucrado en la dimerización de dos monómeros de dominio Fc. En algunas formas de realización, se crea un ojal en un dominio constante de anticuerpo C_H3 para acomodar un botón en otro dominio constante de anticuerpo C_H3, tal que los aminoácidos del botón y del ojal actúen para promover o en favor de la heterodimerización de los monómeros de dominio Fc. En algunas formas de realización, un ojal en uno de los dominios constantes de anticuerpo C_H3 se crea para acomodar mejor un aminoácido original en otro dominio constante de anticuerpo C_H3. En algunas formas de realización, se crea un botón en un dominio constante de anticuerpo C_H3 para formar interacciones adicionales con los aminoácidos originales en otro dominio constante de anticuerpo C_H3.

Un botón puede construirse por reemplazo de los aminoácidos que tienen cadenas laterales más grandes tales como tirosina o triptofano por aminoácidos que tienen cadenas laterales más pequeñas tales como alanina, valina, o treonina, tal como la mutación Y407V en el dominio constante de anticuerpo C_H3. Similarmente, un botón puede construirse por reemplazo de aminoácidos que tienen cadenas laterales más pequeñas por aminoácidos que

tienen cadenas laterales más grandes, tal como la mutación T366W en el dominio constante de anticuerpo C_H3. En una forma de realización preferida, un monómero de dominio Fc incluye la mutación de botón T366W y el otro monómero de dominio Fc incluye las mutaciones de ojal T366S, L358A y Y407V. En algunas formas de realización, un dominio D1 de SIRP- α o variante del mismo en una construcción de SIRP- α de la invención está unido a un monómero de dominio Fc que incluye una mutación de botón T366W para limitar la formación de homodímero botón-botón no deseado (vease FIG. 4A).

En algunas formas de realización, un dominio D1 de SIRP- α o variante del mismo en una construcción de SIRP- α de la invención está unido a un monómero de dominio Fc que incluye mutaciones de ojal, por ejemplo, T366S, L358A y Y407V (véase FIG. 4B). Los ejemplos de pares de aminoácidos botón en ojal se incluyen, sin limitación, en la Tabla 3.

Tabla 3

Monómero de dominio Fc 1	Y407T	Y407A	F405A	T394S	T366S L358A Y407V	T394W Y407T	T394S Y407A	T366W T394S
Monómero de dominio Fc 2	T366Y	T366W	T394W	F405W	T366W	T366Y F405A	T366W F405W	F405W Y407A

Además de la estrategia de botón en ojal, también puede usarse la estrategia de atracción electrostática para controlar la dimerización de los monómeros de dominio Fc. La atracción electrostática es la utilización de interacciones electrostáticas favorables entre aminoácidos con carga opuesta en péptidos, dominios proteicos y proteínas para controlar la formación de moléculas proteicas de mayor orden. En particular, para controlar la dimerización de los monómeros de dominio Fc usando la atracción

electrostática, uno o más residuos aminoacídicos que constituyen la interfaz C_H3-C_H3 se reemplazan por residuos aminoacídicos cargados positiva o negativamente tal que la interacción se vuelva electrostáticamente favorable o desfavorable dependiendo de los aminoácidos cargados específicos introducidos. En algunas formas de realización, se reemplaza un aminoácido cargado positivamente en la interfaz, tal como lisina, arginina, o histidina, por un aminoácido cargado negativamente tal como ácido aspártico o ácido glutámico. En algunas formas de realización, se reemplaza un aminoácido cargado negativamente por un aminoácido cargado positivamente. Los aminoácidos cargados pueden introducirse en uno de los dominios constantes de anticuerpo C_H3 que interactúan, o en ambos. La introducción de aminoácidos cargados a los dominios constantes de anticuerpo C_H3 de los dos monómeros de dominio Fc puede promover la formación selectiva de heterodímeros de monómeros de dominio Fc controlado por los efectos de atracción electrostática que resulta de la interacción entre los aminoácidos cargados. La técnica de atracción electrostática también se describe en la Publicación de Solicitud de Patente de los EE.UU. No. 20140024111, Gunasekaran y col., J Biol Chem. 285:19637-46, 2010 y Martens y col., Clin Cancer Res. 12:6144-52, 2006, cada una de las cuales se incorpora en su totalidad a modo de referencia a la presente. Los Ejemplos de pares de aminoácidos de atracción electrostática se incluyen, sin limitación, en la Tabla 4.

Tabla 4

Monómero de dominio Fc 1	K409D	K409D	K409E	K409E	K392D	K392D	K392E	K392E	K409D	K370E K409D K439E
--------------------------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------------------------

Monómero de dominio Fc 2	D39 9K	D39 9R	D39 9K	D39 9R	D39 9K	D39 9R	D39 9K	D39 9R	D399K D356K	D356K E357K D399K
-----------------------------	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------	----------------	-------------------------

En el arte se conocen otros métodos utilizados para controlar la heterodimerización de los monómeros del dominio Fc, especialmente en el contexto de la construcción de un anticuerpo biespecífico, Davis et al., Protein Eng Des Sel. 23:195-202, 2010, Doppalapudi et al., Proc. Natl Acad. Sci. USA. 107:2261-22616, 2010, Schaefer et al., Proc. Natl Acad. Sci. USA. 108:11187-92, 2011, and Strop et al., J Mol Biol, 420:204-19, 2012, cada uno de los cuales se incorpora aquí como referencia en su totalidad.

V.Conectores

En la presente invención, un conector se usa para describir una unión o conexión entre polipéptidos o dominios proteicos y/o porciones no proteicas asociadas. En algunas formas de realización, un conector es una unión o conexión entre un monómero de dominio Fc y un dominio D1 de SIRP- α o variante del mismo en una construcción de SIRP- α de la invención. En algunas formas de realización, el conector conecta el extremo C-terminal del dominio D1 de SIRP- α o variante del mismo y el extremo N-terminal del monómero de dominio Fc, de forma que los dos polipéptidos se unen entre sí en una serie en tándem.

Un conector puede ser un enlace covalente simple, por ejemplo, un enlace peptídico, un polímero sintético, por ejemplo, un polímero de polietilenglicol (PEG), o cualquier tipo de enlace creado a partir de una reacción química, por ejemplo conjugación química. En el caso de que el conector sea un enlace peptídico, el grupo ácido carboxílico en el extremo C-terminal de un dominio proteico puede reaccionar con el grupo amino del extremo N-terminal

de otro dominio proteico en una reacción de condensación para formar un enlace peptídico. Específicamente, el enlace peptídico puede estar formado por medios sintéticos a través de una reacción química orgánica convencional bien conocida en el arte, o mediante producción natural a partir de una célula huésped, en donde se puede transcribir directamente una molécula de ácido nucleico que codifica para las secuencias de ADN de ambas proteínas, por ejemplo, un monómero de dominio Fc y una variante D1 de SIRP- α de alta afinidad, en serie den tándem, y traducirse a un polinucleótido continuo que codifica para ambas proteínas mediante las maquinarias moleculares necesarias, por ejemplo, ADN polimerasa y ribosomas, en la célula huésped.

En el caso de que un conector sea un polímero sintético, por ejemplo, un polímero de PEG, el polímero se puede funcionalizar con grupos funcionales químicos reactivos en cada extremo para reaccionar con los aminoácidos terminales en los extremos de conexión de las proteínas.

En el caso de que un conector (excepto el enlace peptídico que se mencionó previamente) esté elaborado a partir de una reacción química, los grupos funcionales químicos, por ejemplo, grupos amina, ácido carboxílico, éster, azida, u otro grupo funcional comúnmente usado en el arte, se pueden unir en forma sintética al extremo C-terminal de una proteína y al extremo N-terminal de otra proteína, respectivamente. Los dos grupos funcionales pueden reaccionar luego a través de medios de química sintética para formar un enlace químico, conectando así las dos proteínas juntas. Dichos procedimientos de conjugación química son de rutina para las personas con experiencia en el arte.

Espaciador

En la invención presente, un conector entre un dominio Fc monómero y

un dominio D1 de SIRP- α o variante del mismo en una construcción de SIRP- α de la invención, puede ser un espaciador de aminoácidos que incluye entre 1 y 200 aminoácidos. En el arte se conocen espaciadores peptídicos adecuados e incluyen, por ejemplo, conectores peptídicos que contienen residuos aminoacídicos flexibles, tales como glicina y serina. En determinadas formas de realización, un espaciador puede contener motivos, por ejemplo, motivos múltiples o repetitivos, de GS, GG, GGS, GGG, GGGGS (SEQ ID N°: 39), GGSG (SEQ ID N°: 40), o SGGG (SEQ ID N°: 41). En algunas formas de realización, un espaciador puede contener entre 2 y 12 aminoácidos que incluyen motivos de GS, por ejemplo, GS, GAGS (SEQ ID N°: 42), GSGSGS (SEQ ID N°: 43), GSGSGSGS (SEQ ID N°: 44), GSGSGSGSGS (SEQ ID N°: 45), o GSGSGSGSGSGS (SEQ ID N°: 46). En algunas formas de realización, un espaciador puede contener entre 3 y 12 aminoácidos que incluyen motivos de GGS, por ejemplo, GGS, GGSGGS (SEQ ID N°: 47), GGSGGSGGS (SEQ ID N°: 48) y GGSGGSGGSGGS (SEQ ID N°: 49). En algunas formas de realización, un espaciador puede contener entre 4 y 12 aminoácidos que incluyen motivos de GGSG (SEQ ID N°: 40), por ejemplo, GGSG (SEQ ID N°: 40), GGSGGGSG (SEQ ID N°: 50), o GGSGGGSGGGSG (SEQ ID N°: 51). En algunas formas de realización, un espaciador puede contener motivos de GS (SEQ ID N°: 39), por ejemplo, GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID N°: 52). En algunas formas de realización, un espaciador también puede contener aminoácidos diferentes de glicina y serina, por ejemplo, AAS (SEQ ID N°: 53), AAAL (SEQ ID N°: 54), AAAK (SEQ ID N°: 55), AAAR (SEQ ID N°: 56), EGKSSGSGSESKST (SEQ ID N°: 57), GSAGSAAGSGEF (SEQ ID N°: 58), AEAAAKEAAKA (SEQ ID N°: 59), KESGSVSSEQLAQFRSLD (SEQ ID N°:

60), GGGGAGGGG (SEQ ID N°: 61), GENLYFQSGG (SEQ ID N°: 62), SACYCELS (SEQ ID N°: 63), RSIAT (SEQ ID N°: 64), RPACKIPNDLKQKVMNH (SEQ ID N°: 65), GGSAGGSGSGSSGGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG (SEQ ID N°: 66), AAANSSIDLISVPVDSR (SEQ ID N°: 67), o GGSAGGSGSGSSGGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG (SEQ ID N°: 68). En algunas formas de realización, un espaciador puede contener motivos, por ejemplo, motivos múltiples o repetidos, de EAAAK (SEQ ID NO: 69). En algunas formas de realización, un espaciador puede contener motivos, por ejemplo, motivos múltiples o repetidos, de secuencias ricas en prolina tal como (XP)_n, donde X puede ser cualquier aminoácido (por ejemplo, A, K, o E) y n está entre 1-5, yPAPAP (SEQ ID NO: 70).

La longitud del espaciador peptídico y aminoácidos usados se puede ajustar de acuerdo con las dos proteínas involucradas y el grado de flexibilidad deseado en el polipéptido de fusión de proteínas final. La longitud del espaciador se puede ajustar para asegurar el plegamiento apropiado de la proteína y evitar la formación de agregados.

VI. Construcciones SIRP- α

En general, la invención presenta construcciones SIRP- α que incluyen un dominio D1 de SIRP- α o una variante del mismo. En algunas formas de realización, una construcción SIRP- α incluye un dominio D1 de SIRP- α o una variante del mismo unido a un primer monómero de dominio FC por medio de un conector y un segundo monómero del dominio Fc, donde el primer y segundo monómeros del dominio Fc se combinan para formar un dominio Fc (como se observa en la FIG. 1). En algunas formas de realización, no existe un

dominio variable de anticuerpo o proteína unido al segundo monómero FC. En algunas formas de realización, una construcción SIRP- α incluye un dominio D1 de SIRP- α o una variante del mismo unida a un primer monómero de dominio FC por medio de un conector y un dominio variable de anticuerpo unido a un segundo monómero del dominio Fc por medio de un conector, donde los primer y segundo monómeros del dominio Fc se combinan para formar un dominio Fc (tal como se observa en la FIG. 2). En algunas formas de realización, una construcción SIRP- α incluye un dominio D1 de SIRP- α o una variante del mismo unido a un primer monómero de dominio FC por medio de un conector y una proteína terapéutica (por ejemplo, una citoquina, una interleucina, un antígeno, un esteroide, un agente anti-inflamatorio o un agente inmunomodulador) unida a un segundo monómero del dominio Fc por medio de un conector, donde el primer y segundo monómeros del dominio Fc se combinan para formar un dominio Fc (tal como se observa en la FIG. 3). En cualquiera de las construcciones SIRP- α descritas anteriormente (por ejemplo, las construcciones SIRP- α tal como se observa en las FIGs. 1-3), cada uno de los dos monómeros del dominio Fc de estas construcciones puede incluir sustituciones de aminoácidos que promueven la heterodimerización de los dos monómeros. En este documento se describen en detalle diferentes estrategias (por ejemplo, la estrategia de botón en ojal, la estrategia de dirección electrostática) y sustituciones de aminoácidos en el dominio Fc que promueven la heterodimerización de dos monómeros del Dominio Fc. Por ejemplo, la Fig. 4A ilustra una construcción SIRP- α que tiene la un dominio D1 de SIRP- α o una variante del mismo unido a un monómero de dominio Fc incluyendo una mutación de botón, por ejemplo, T366W, para limitar la formación de un

homodímero botón - botón no deseado. La figura 4B ilustra una construcción SIRP- α que tiene un dominio D1 de SIRP- α o una variante del mismo unida a un monómero de dominio Fc incluyendo mutaciones de ojal, por ejemplo, T366S, L358A y Y407V. Estrategias similares heterodimerización del dominio Fc se pueden aplicar a los dominios Fc en las construcciones descritas en las figuras 2 y 3. En ciertas formas de realización, una construcción SIRP- α incluye una proteína de fusión de un dominio D1 de SIRP- α o una variante del mismo unido a un monómero de un dominio Fc (tal como se observa en la fig. 5A). Esta proteína de fusión puede formar un homodímero (Tal como se observa en la Fig. 5B).

VII. Vectores, células huésped y producción de proteínas

Las construcciones de SIRP- α de la invención pueden producirse a partir de una célula huésped. Una célula huésped se refiere a un vehículo que incluye los componentes celulares necesarios, por ejemplo, organelas, requeridas para expresar los polipéptidos y polipéptidos de fusión descritas en la presente a partir de sus correspondientes ácidos nucleicos. Los ácidos nucleicos pueden incluirse en vectores de ácido nucleicos que pueden introducirse en la célula huésped por técnicas convencionales conocidas en el arte (por ejemplo, transformación, transfección, electroporación, precipitación con fosfato de calcio, microinyección directa, infección, etc.). La selección de los vectores de ácidos nucleicos depende en parte de las células huéspedes a usar. Generalmente, las células huéspedes preferidas son de origen procariótico (por ejemplo, bacteriano) o eucariótico (por ejemplo, mamífero).

Construcción de vector de ácido nucleico y células huéspedes

Una secuencia de ácido nucleico que codifica para la secuencia de

aminoácidos de un polipéptido puede prepararse por una variedad de métodos conocidos en el arte. Estos métodos incluyen, a título enunciativo no taxativo, mutagénesis mediada por oligonucleótido (o dirigida a sitio) y mutagénesis por PCR. Una molécula de ácido nucleico que codifica un polipéptido puede obtenerse usando técnicas estándares, por ejemplo, síntesis de genes. Como alternativa, una molécula de ácido nucleico que codifica para un dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje puede mutarse para que incluya sustituciones de ácido nucleico específicas usando técnicas estándares en el arte, por ejemplo, mutagénesis QuikChangeTM. De forma similar, las moléculas de ácido nucleico que codifican las cadenas liviana y pesada del anticuerpo pueden ser mutadas para que incluyan sustituciones específicas de aminoácidos usando técnicas estándar del arte, por ejemplo la mutagénesis QuikChangeTM. Las moléculas de ácido nucleico pueden sintetizarse usando un sintetizador de nucleótidos o técnicas de PCR.

Una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido puede insertarse en un vector con capacidad de replicarse y expresar las moléculas de ácido nucleico en células huéspedes procariotas y eucariotas. Muchos de los vectores se encuentran disponibles en el arte y pueden usarse para los propósitos de la invención. Cada vector puede incluir diferentes componentes que pueden ajustarse y optimizarse para compatibilidad con la célula huésped particular. Por ejemplo, los componentes del vector pueden incluir, a título enunciativo no taxativo, un origen de replicación, un gen marcador de selección, un promotor, un sitio de unión a ribosoma, una secuencia señal, una secuencia de ácido nucleico que codifica una proteína de interés, y una secuencia de terminación de la transcripción.

En algunas formas de realización de la invención, se usan células de mamíferos como huéspedes. Los ejemplos de células de mamíferos incluyen, no taxativamente, riñón embrionario humano (HEK) (por ejemplo, HEK293, HEK 293F), ovario de hámster chino (CHO), HeLa, COS, PC3, Vero, MC3T3, NS0, Sp2/0, VERY, BHK, MDCK, W138, BT483, Hs578T, HTB2, BT20, T47D, NS0 (línea celular de mieloma murino no produce de manera endógena ninguna cadena de inmunoglobulina), CRL7030, y células HsS78Bst. En algunas formas de realización, las células E. coli se usan como células huéspedes para la invención. Los ejemplos de cepas de E. coli incluyen, a título enunciativo no taxativo, E. coli 294 (ATCC[®] 31,446), E. coli λ 1776 (ATCC[®] 31,537, E. coli BL21 (DE3) (ATCC[®] BAA-1025) y E. coli RV308 (ATCC[®] 31,608). Las diferentes células huéspedes tienen mecanismos característicos y específicos para el procesamiento y modificación postraducciona de los productos proteicos (por ejemplo, glicosilación). Las líneas de células apropiadas o sistemas huéspedes pueden seleccionarse para asegurarse la modificación correcta y procesamiento del polipéptido expresado. Los vectores de expresión descritos precedentemente pueden introducirse en células huéspedes apropiadas usando técnicas convencionales en el arte, por ejemplo, transformación, transfección, electroporación, precipitación con fosfato de calcio y microinyección directa. Una vez que se introducen los vectores en las células huéspedes para la producción de proteína, las células huéspedes se cultivan en medios nutrientes convencionales modificados de manera apropiada para inducir los promotores, seleccionar transformantes, o amplificar los genes que codifican para las secuencias deseadas. **Los métodos de expresión de las proteínas terapéuticas son conocidos en el arte, véase por ejemplo, Paulina Balbas, Argelia Lorence (eds.) Recombinant Gene**

Expression: Reviews and Protocols (Methods in Molecular Biology), Humana Press; 2nd ed. 2004 and Vladimir Voynov and Justin A. Caravella (eds.) Therapeutic Proteins: Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology) Humana Press; 2nd ed. 2012.

Producción, recuperación y purificación de la proteína

Las células huéspedes usadas para producir las construcciones de la invención pueden hacerse crecer en medios conocidos en el arte y adecuados para cultivar las células huéspedes seleccionadas. Los ejemplos de medios adecuados para las células huéspedes de mamífero incluyen medio esencial mínimo (MEM), medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM), Medio de Expresión Expi293™, DMEM con suplemento de suero bovino fetal (FBS) y RPMI-1640. Los ejemplos de medios apropiados para células huéspedes bacterianas incluyen caldo de Luria broth (LB) más los suplementos necesarios, tal como un agente de selección, por ejemplo, ampicilina. Las células huéspedes se cultivan a temperaturas adecuadas, tal como entre aproximadamente 20 °C y aproximadamente 39 °C, por ejemplo, entre 25 °C y aproximadamente 37 °C, preferiblemente 37 °C, y niveles de CO₂, tal como entre 5% y 10% (preferiblemente 8%). El pH del medio generalmente es entre aproximadamente 6,8 y 7,4, por ejemplo, 7,0, dependiendo principalmente del organismo huésped. Si se usa un promotor inducible en el vector de expresión de la invención, la expresión de proteína se induce en condiciones adecuadas para la activación del promotor.

La recuperación de la proteína típicamente involucra romper la célula huésped, generalmente usando medios tales como shock osmótico, sonicado, o lisis. Una vez que las células se rompen, los restos celulares pueden quitarse por centrifugación o filtración. Las proteínas pueden purificarse adicionalmente.

Una construcción de la invención se puede purificar mediante cualquier método conocido en el arte de la purificación de proteínas, por ejemplo, por cromatografía (por ejemplo, cromatografía de intercambio iónico, de afinidad, y de columna por exclusión de tamaño), centrifugado, solubilidad diferencial, o por cualquier otra técnica estándar para la purificación de proteínas. Por ejemplo, la proteína se puede aislar y purificar por selección y combinación apropiada de columnas de afinidad tales como columna de Proteína A (por ejemplo, cromatografía de intercambio catiónico POROS HS-50) con columnas cromatográficas (por ejemplo, cromatografía de intercambio catiónico POROS HS-50), filtración, ultra filtración, separación de sales y procedimientos de diálisis. En algunos casos, un polipéptido se puede conjugar a secuencias marcadoras, tales como un péptido, para facilitar su purificación. Un ejemplo de una secuencia de aminoácidos marcadora es un péptido de hexa-histidina (rótulo His), que se une a una columna de afinidad de agarosa funcionalizada con níquel con afinidad micromolar. Otros rótulos peptídicos útiles para purificación incluyen a, a título enunciativo no taxativo, el rótulo de hemaglutinina "HA", que corresponde a un epítopo derivado de la proteína hemaglutinina de influenza (Wilson y col., Cell37:767,1984).

Como alternativa, una construcción de la invención puede ser producida por las células de un sujeto (por ejemplo, un humano), por ejemplo, en el contexto de terapia génica, por administración de un vector (tal como un vector viral (por ejemplo, un vector retroviral, vector adenoviral, vector de poxvirus (por ejemplo, vector de virus vacuna, tal como Vaccinia Ankara modificado (MVA)), vector viral adenoasociado y vector alfaviral)) que contiene moléculas de ácido nucleico que codifican los polipéptidos en la construcción. El vector, una vez dentro de una célula del sujeto (por ejemplo, por transformación, transfección,

electroporación, precipitación con fosfato de calcio, microinyección directa, infección, etc.) promoverá la expresión los polipéptidos en la construcción, que luego es secretada fuera de la célula. Si lo que se busca es el tratamiento de una enfermedad o afección, no se requiere ninguna acción adicional. Si se desea recolectar la proteína, se puede obtener sangre del sujeto y purificar las proteínas de la sangre mediante los métodos conocidos en el arte.

VIII. Composiciones y preparaciones farmacéuticas

La invención comprende composiciones farmacéuticas que incluyen las construcciones de SIRP- α divulgadas en la presente. En algunas formas de realización, en una terapia se puede usar una composición farmacéutica de la invención en combinación con otros agentes (por ejemplo, productos biológicos terapéuticos y/o pequeñas moléculas) o composiciones. Además de una cantidad terapéutica de la construcción, la composición farmacéutica puede incluir uno o más transportadores o excipientes farmacéuticamente aceptables, que pueden formularse mediante métodos conocidos para aquellos con experiencia en el arte. En algunas formas de realización, una composición farmacéutica de la invención incluye pueden contener moléculas de ácido nucleico (ADN o ARN, por ejemplo, ARNm) que codifican la construcción de la invención, o un vector que contiene dichas moléculas de ácidos nucleicos.

Los transportadores y excipientes aceptables en las composiciones farmacéuticas no son tóxicos para los receptores a las dosificaciones y concentraciones empleadas. Los transportadores y excipientes aceptables pueden incluir soluciones amortiguadoras tales como fosfato, citrato, HEPES y TAE, antioxidantes tales como ácido ascórbico y metionina, conservantes tales como cloruro de hexametonio, cloruro de octadecildimetilbencilamonio, resorcinol y cloruro de benzalconio, proteínas tales como albúmina sérica

humana, gelatina, dextrano e inmunoglobulinas, polímeros hidrofílicos tales como polivinilpirrolidona, aminoácidos tales como glicina, glutamina, histidina y lisina e hidratos de carbono tales como glucosa, manosa, sacarosa y sorbitol. Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden administrarse de manera parenteral en la forma de una formulación inyectable. Las composiciones farmacéuticas para inyectar pueden formularse usando una solución estéril o cualquier líquido farmacéuticamente aceptable como vehículo. Los vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen, a título enunciativo no taxativo, agua estéril, solución fisiológica y medio de cultivo celular (por ejemplo, medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM), medio Eagles α -modificado (α -MEM), medio F-12). Los métodos de formulación son conocidos en el arte, véase, por ejemplo, Banga (ed.) *Therapeutic Peptides and Proteins: Formulation, Processing and Delivery Systems* (2nd ed.) Taylor & Francis Group, CRC Press (2006).

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden prepararse en microcápsulas, tal como microcápsulas de hidroximetilcelulosa o de gelatina y microcápsula de poli-(metilmetacrilato). Las composiciones farmacéuticas de la invención también pueden prepararse en otros sistemas de administración de fármacos tales como liposomas, microesferas de albúmina, microemulsiones, nanopartículas y nanocápsulas. Las mencionadas técnicas se describen en Remington: *The Science and Practice of Pharmacy* 22^{ta} edición (2012). Las composiciones farmacéuticas a usar para la administración in vivo deben ser estériles. Esto se logra fácilmente por filtración a través de membranas de filtración estéril.

Las composiciones farmacéuticas de la invención también pueden prepararse como una formulación de liberación sostenida. Los ejemplos

adecuados de preparaciones de liberación sostenida incluyen matrices semipermeables de polímeros hidrofóbicos sólidos que contienen las composiciones de la invención. Los ejemplos de matrices de liberación sostenida incluyen poliésteres, hidrogeles, polilactidas, copolímeros de ácido L-glutámico y γ etil-L-glutamato, acetato de etileno-vinilo no degradable, copolímeros de ácido láctico-ácido glicólico degradables tales como LUPRON DEPOT™ y ácido poli-D-(-)-3-hidroxibutírico. Algunas de las formulaciones de liberación sostenida permiten la liberación de moléculas durante unos pocos meses, por ejemplo, entre uno y seis meses, mientras que otras formulaciones liberan composiciones farmacéuticas de la invención durante periodos de tiempo más cortos, por ejemplo, días a semanas.

La composición farmacéutica puede prepararse en una dosis individual según se requiera. Las cantidades de componente activo, por ejemplo, la construcción de la invención, incluidas en las preparaciones farmacéuticas son tal que se provee una dosis adecuada en el rango designado (por ejemplo, una dosis en el rango entre 0,01 y 100 mg/kg de peso corporal).

La composición farmacéutica para terapia genética puede estar en un diluyente aceptable, o puede incluir una matriz de liberación lenta en la cual está embebido el vehículo de administración genética. Los vectores que pueden usarse como vehículo para administración genética in vivo incluyen, a título enunciativo no taxativo, vectores retrovirales, vectores adenovirales, vectores poxvirales (por ejemplo, vectores de virus vacuna, tal como Vaccinia Ankara modificado), vectores virales adenoasociados y vectores alfavirales.

IX. Rutas, dosificaciones y tiempos de administración

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden formularse por ejemplo para administración intravenosa, administración parenteral,

administración subcutánea, administración intravenosa, administración intramuscular, administración intraarterial, administración intratecal, o administración intraperitoneal. La composición farmacéutica también puede formularse para, o administrarse por vía, administración bucal, nasal, en aspersion, en aerosol, rectal, o vaginal. Para las formulaciones inyectables, se conocen diferentes transportadores farmacéuticos eficaces en el arte. Véase, por ejemplo, *Pharmaceutics and Pharmacy Practice*, J. B. Lippincott Company, Philadelphia, Pa., Banker and Chalmers, eds., páginas 238-250 (1982) y *ASHP Handbook on Injectable Drugs*, Toissel, 4ta ed., páginas 622-630 (1986).

En algunas formas de realización, es posible administrar una composición farmacéutica que incluye moléculas de ácido nucleico o un vector que contiene tales moléculas de ácido nucleico por medio de administración génica. Los métodos de administración de genes son bien conocidos en el arte. Los vectores que se pueden usar para la administración y expresión de genes in vivo incluyen no taxativamente vectores retrovirales, vectores adenovirales, vectores poxvirales (por ejemplo, vectores de vaccinia viral tales como Modified Vaccinia Ankara (MVA)), vectores virales adeno-asociados y vectores alfavirales.

La dosificación de las composiciones farmacéuticas de la invención depende de factores que incluyen la ruta de administración, la enfermedad a tratar y características físicas, por ejemplo, edad, peso, salud general, del sujeto. Típicamente, la cantidad de la composición farmacéutica contenida en una dosis individual puede ser una cantidad que previene, demora o trata eficazmente la enfermedad sin inducir una toxicidad significativa. Una composición farmacéutica de la invención puede incluir una dosificación de una construcción que varía en un rango entre 0,01 y 500 mg/kg (por ejemplo, 0,01,

0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, o 500 mg/kg) y, en una forma de realización más específica, entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 30 mg/kg y, en una forma de realización más específica, entre aproximadamente 1 y aproximadamente 30 mg/kg. La dosificación puede ser adaptada por el médico de acuerdo con factores convencionales tales como la extensión de la enfermedad y diferentes parámetros del sujeto.

Las composiciones farmacéuticas se administran de manera compatible con la formulación dosificada y en cantidad tal que sea terapéuticamente eficaz y resulte en una mejora o remediación de los síntomas. Las composiciones farmacéuticas se administran en una variedad de formas de dosificación, por ejemplo, formas de dosificación intravenosa, formas de dosificación subcutánea, y formas de dosificación oral (por ejemplo, soluciones ingeribles, cápsulas de liberación de fármacos). En general, las proteínas terapéuticas se dosifican a 0,1-100 mg/kg, por ejemplo, 1-50 mg/kg. Las composiciones farmacéuticas pueden administrarse a un sujeto que lo requiere, por ejemplo, una o más veces (por ejemplo, entre 1 y 10 veces o más) diariamente, semanalmente, mensualmente, semestralmente, anualmente, o según sea necesario médicamente. Las dosificaciones pueden proveerse en un régimen de dosificación individual o múltiple. El tiempo entre las administraciones puede disminuir según si la condición médica mejora o aumenta a medida que la salud del paciente decae.

X.Métodos de tratamiento

La invención provee composiciones farmacéuticas y métodos de tratamiento que pueden usarse para tratar pacientes que están padeciendo enfermedades y trastornos, tales como cánceres. En algunas formas de

realización, las construcciones de SIRP- α de la invención descritas en la presente pueden administrarse a un sujeto en un método para aumentar la fagocitosis de una célula blanco (por ejemplo, una célula cancerígena) en el sujeto. En algunas formas de realización, las construcciones de SIRP- α de la invención descritas en la presente pueden administrarse a un sujeto en un método para eliminar células T regulatorias en el sujeto. En algunas formas de realización, las construcciones de SIRP- α de la invención pueden administrarse a un sujeto en un método para matar células cancerígenas en el sujeto. En algunas formas de realización, las construcciones de SIRP- α descritas en la presente pueden administrarse a un sujeto en un método para favorecer el injerto de células madre hematopoyéticas en el sujeto, en donde el método incluye modular las interacciones entre SIRP- α y CD47 en el sujeto. En algunas formas de realización, las construcciones de SIRP- α descritas en la presente pueden administrarse a un sujeto en un método para alterar una respuesta inmunológica (es decir, suprimir la respuesta inmunológica) en el sujeto.

En algunas formas de realización, antes de tratar una enfermedad (por ejemplo, cáncer) en un sujeto, se determina la o las secuencias de aminoácidos de SIRP- α en el sujeto, por ejemplo, de cada uno de los dos alelos que codifican para el gen SIRP- α . En este método de la invención, el método determina las secuencias de aminoácidos del polipéptido SIRP- α en una muestra biológica del sujeto y luego administra al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una construcción de SIRP- α de la invención. En este método, el dominio D1 de SIRP- α o variante del mismo en la construcción de SIRP- α tiene la misma secuencia de aminoácidos que un polipéptido SIRP- α en la muestra biológica del sujeto, excepto por los cambios de aminoácidos introducidos para aumentar la afinidad de la variante D1 de SIRP- α . El dominio

D1 de SIRP- α o variante del mismo en la construcción de SIRP tiene inmunogenicidad mínima en el sujeto después que se administra la construcción.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse en diferentes terapias contra el cáncer. Los cánceres susceptibles al tratamiento de acuerdo con la invención incluyen, a título enunciativo no taxativo, cáncer de tumor sólido, cáncer hematológico, leucemia mieloide aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia mieloide crónica, leucemia linfoblástica aguda, linfoma no Hodgkin, linfoma Hodgkin, mieloma múltiple, cáncer de vejiga, cáncer pancreático, cáncer de cuello uterino, cáncer de endometrio, cáncer de pulmón, cáncer de bronquios, cáncer de hígado, cáncer de ovario, cáncer de colon y recto, cáncer de estómago, cáncer gástrico, cáncer de vesícula biliar, cáncer de tumor del estroma gastrointestinal, cáncer de tiroides, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de orofaringe, cáncer de esófago, melanoma, cáncer de piel no melanoma, carcinoma de células de Merkel, cáncer inducido viralmente, neuroblastoma, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer renal, cáncer de células renales, cáncer de pelvis renal, leucemia, linfoma, sarcoma, glioma, cáncer de cerebro y carcinoma. En algunas formas de realización, las condiciones cancerosas susceptibles de tratamiento para tratar de acuerdo con la invención incluyen cánceres metastásicos. En algunas formas de realización, el cáncer susceptible de tratamiento de acuerdo con la invención es un tumor sólido o cáncer hematológico.

Las construcciones de SIRP- α y composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse en diferentes terapias para tratar enfermedades inmunológicas. En algunas formas de realización, la enfermedad inmunológica es una enfermedad autoinmunológica o una enfermedad inflamatoria, tal como

esclerosis múltiple, artritis reumatoide, una espondiloartropatía, lupus sistémico eritematoso, una enfermedad inflamatoria mediada por anticuerpos o autoinmunológica, enfermedad de injerto versus huésped, sepsis, diabetes, psoriasis, aterosclerosis, síndrome de Sjogren, esclerosis sistémica progresiva, escleroderma, síndrome coronario agudo, isquemia reperusión, enfermedad de Crohn, endometriosis, glomerulonefritis, miastenia gravis, fibrosis pulmonar idiopática, asma, síndrome de distrés respiratorio agudo (ARDS), vasculitis, o miosis autoinmunológica inflamatoria.

EJEMPLOS

Ejemplo 1 – Generación de variantes de SIRP- α

Se pueden generar variantes de un dominio D1 SIRP- α en las construcciones de SIRP- α de la invención usando técnicas de clonado molecular y de expresión proteica convencionales. Las sustituciones de aminoácidos posibles en una variante de D1 de SIRP- α D1 con relación a un dominio D1 de SIRP- α salvaje, se listan en la Tabla 1. Se puede clonar una molécula de ácido nucleico que codifica para una variante D1 de SIRP- α en un vector optimizado para su expresión en células bacterianas o de mamíferos usando técnicas de biología molecular bien conocidas. Si se utilizan las células bacterianas, el vector se puede transformar entonces en células de bacterias (por ejemplo, células de *E. coli*), que se pueden cultivar hasta lograr una densidad óptima antes de la inducción de la expresión proteica. Después de la inducción de la expresión proteica (es decir, usando IPTG), se pueden dejar las células bacterianas en cultivo durante otras 24 horas. Se pueden recolectar las células y purificar las variantes D1 de SIRP- α expresada a partir del sobrenadante de cultivo celular usando, por ejemplo, cromatografía de afinidad en columna. Las variantes D1 de SIRP- α purificadas se pueden analizar por

SDS-PAGE seguido por tinción con azul de Coomassie para confirmar la presencia de las bandas proteicas de tamaño esperado.

Las variantes D1 de SIRP- α purificadas se pueden cribar para estudiar su unión a CD47 usando técnicas disponibles en el arte, tales como exposición en fagos, exposición en levaduras, resonancia de plasmón superficial, ensayos de proximidad por centelleo, ELISA, inmunoensayo ORIGEN (IGEN), extinción de fluorescencia, y/o transferencia de fluorescencia. También se puede cribar la unión usando un bioensayo adecuado. Las variantes D1 de SIRP- α deseadas se unen con mayor afinidad a CD47 que una SIRP- α tipo salvaje.

Ejemplo 2 – Ensayo de variantes D1 de SIRP- α con alta afinidad de unión a CD47 en ratones.

Se pueden usar modelos de diversos cánceres de ratones genéticamente modificados, por ejemplo, de tumores sólidos y cánceres hematológicos, para ensayar la unión de las variantes D1 de SIRP- α a CD47. Se puede inyectar una variante D1 de SIRP- α en un ratón, que se puede diseccionar en un momento posterior para detectar la presencia del complejo de la variante D1 de SIRP- α y CD47. En la detección se pueden usar anticuerpos específicos contra SIRP- α o CD47.

Ejemplo 3 –Ensayo de construcciones para inmunogenicidad SIRP- α

Se ensayan las construcciones de D1 de SIRP- α en ensayos de inmunogenicidad. Las construcciones se pueden ensayar tanto in silico (véase, por ejemplo, King y col., Proc Natl Acad Sci USA. 111:8577- 82,2014) como in vitro en ensayos de proliferación de células T, algunos de los cuales están comercialmente disponibles. Se seleccionan entonces las construcciones que provocan una reacción de inmunogenicidad mínima en un ensayo de proliferación de células T in vitro y que muestran una mayor afinidad de unión a

CD47 que la SIRP- α de tipo salvaje para un desarrollo adicional.

Ejemplo 4 –Ensayo de variantes D1 de SIRP- α para afinidad optimizada

Puede ser deseable desarrollar una variante con una menor afinidad de unión a CD47 que el máximo que se pueda conseguir. Para ello, se inyectan diferentes variantes D1 de SIRP- α que muestran grados diversos de afinidades de unión incrementadas a CD47, en comparación con la SIRP- α de tipo salvaje, en un modelo animal de cáncer (por ejemplo, un modelo de cáncer en ratón) para ensayar el efecto de las diferentes afinidades de unión sobre la toxicidad en el organismo. El experimento se puede hacer en primates con variantes D1 humanizadas de SIRP- α de alta afinidad, debido a que estas reaccionan en forma cruzada sustancialmente más con CD47 de primate no humano (NHP) que con CD47 de ratón.

Otras formas de realización

Si bien esta invención se ha descrito en relación a formas de realización específicas, se comprenderá que es posible realizar otras modificaciones y la presente cubre cualquier variante, uso o adaptación de la invención que siga, en general, los principios de la invención dentro de las prácticas conocidas o habituales en la técnica a la cual pertenece la invención y que pueda aplicarse a las características esenciales que se establecen en la presente.

Todas la publicaciones,, patentes, y solicitudes de patente se incorporan en su totalidad a la presente a modo de referencia como si se hubiera indicado individualmente para cada publicación, patente o solicitud de patente que se incorpora en su totalidad a la presente a modo de referencia.

Otras formas de realización están dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones:

REIVINDICACIONES

1. Una construcción de proteína reguladora de señales α (SIRP- α) que comprende
 - a) un primer polipéptido que tiene la fórmula A-L-B; en donde
 - i) A comprende un dominio SIRP- α D1 o variante del mismo;
 - ii) L es un enlace; y
 - iii) B comprende un primer monómero de dominio Fc; y
 - b) un segundo polipéptido que comprende un segundo monómero de dominio Fc;

en donde dicho primer monómero de dominio Fc y dicho segundo monómero de dominio Fc se combinana para formar un dominio Fc.
2. Una construcción SIRP- α que comprende
 - a) un primer polipéptido que tiene la fórmula A-L-B; en donde
 - i) A comprende un dominio SIRP- α D1 o variante del mismo;
 - ii) L es un enlace; y
 - iii) B comprende un primer monómero de dominio Fc; y
 - b) un segundo polipéptido que tiene la fórmula A'-L'-B'; en donde
 - i) A' comprende un dominio variable de anticuerpo;
 - ii) L' es un enlace; y
 - iii) B' comprende un segundo monómero de dominio Fc;

en donde dicho primer monómero de dominio Fc y dicho segundo monómero de dominio Fc se combinana para formar un dominio Fc.
3. La construcción SIRP- α de la reivindicación 2, en donde dicho dominio variable de anticuerpo se dirige a un antígeno celular.
4. La construcción SIRP- α de la reivindicación 3, en donde dicha célula

antígeno está en una célula cancerígena.

5. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 2-4, en donde dicho dominio variable de anticuerpo se une a 5T4, AGS-16, ALK1, ANG-2, B7-H3, B7-H4, c-fms, c-Met, CA6, CD123, CD19, CD20, CD22, EpCAM, CD30, CD32b, CD33, CD37, CD38, CD40, CD52, CD70, CD74, CD79b, CD98, CEA, CEACAM5, CLDN18.2, CLDN6, CS1, CXCR4, DLL-4, EGFR, EGP-1, ENPP3, EphA3, ETBR, FGFR2, fibronectin, FR-alfa, GCC, GD2, glipican-3, GPNMB, HER-2, HER3, HLA-DR, ICAM-1, IGF-1R, IL-3R, LIV-1, mesotelina, MUC16, MUC1, NaPi2b, Nectin-4, Notch 2, Notch 1, PD-L1, PD-L2, PDGFR- α , PS, PSMA, SLTRK6, STEAP1, TEM1, VEGFR, CD25, CD27L, DKK-1, o CSF-1R.
6. La construcción SIRP- α de la reivindicación 2, en donde dicho dominio variable de anticuerpo is not engineered to bind a human protein.
7. Una construcción SIRP- α que comprende
 - a) un primer polipéptido que tiene la fórmula A-L-B; en donde
 - i) A comprende un dominio SIRP- α D1 o variante del mismo;
 - ii) L es un enlace; y
 - iii) B comprende un primer monómero de dominio Fc; y
 - b) un segundo polipéptido que tiene la fórmula A'-L'-B'; en donde
 - i) A' comprende un agente terapéutico, en donde dicha proteína terapéutica no es un dominio variable de anticuerpo;
 - ii) L' es un enlace; y
 - iii) B' comprende un segundo monómero de dominio Fc;

en donde dicho primer monómero de dominio Fc y dicho segundo monómero de dominio Fc se combinana para formar un dominio Fc.

8. La construcción SIRP- α de la reivindicación 7, en donde dicha proteína terapéutica es una citoquina, una interleuquina, un antígeno, un esteroide, un agente antiinflamatorio o un agente inmunomodulador.
9. Una construcción SIRP- α que comprende un polipéptido que tiene le fórmula A-L-B; en donde
 - i) A comprende un dominio SIRP- α D1 o variante del mismo;
 - ii) L es un enlace; y
 - iii) B comprende un monómero de dominio Fc.
10. La construcción SIRP- α de la reivindicación 9, en donde dicha construcción SIRP- α forma un homodímero.
11. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en donde dicha dominio SIRP- α D1 tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-10.
12. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde dicha variante de un dominio SIRP- α D1 tiene una secuencia de EEEX₁QX₂IQPDKSVLVAAGETX₃TLRCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPG RX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSDX₁₀TX₁₁RNNMDFSIRIGX₁₂ITX₁₃ADAGT YYCX₁₄KX₁₅RKGSPDDVEX₁₆KSGAGTELSVRKPS (SEQ ID NO: 11),
 en donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o, I; X₃ es A o V; X₄ es A, I, o I; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es L, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V; y X₁₆ es F o V; y

en donde dicha variante tiene por lo menos una sustitución de aminoácido relacionada con un dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 1.

13. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde dicha variante de un dominio SIRP- α D1 tiene una secuencia de
 EEGX₁QX₂IQPDKSVSVAAGESX₃ILHCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPG
 RX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSDX₁₀TX₁₁RNNMDFSIRIGX₁₂ITX₁₃ADAGT
 YYCX₁₄KX₁₅RKGSPDDVEX₁₆KSGAGTELSVRKPS (SEQ ID NO: 14),

en donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o, I; X₃ es A o V; X₄ es A, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es L, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V; y X₁₆ es F o V; y

en donde dicha variante tiene por lo menos una sustitución de aminoácido relacionada con un dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 4.

14. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde dicha variante de un dominio SIRP- α D1 tiene una secuencia de
 EEEX₁QX₂IQPDKFVLVAAGETX₃TLRCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPG
 RX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSDX₁₀TX₁₁RNNMDFSIRIGX₁₂ITX₁₃ADAGT
 YYCX₁₄KX₁₅RKGSPDDVEX₁₆KSGAGTELSVRKPS (SEQ ID NO: 15),

en donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o, I; X₃ es A o V; X₄ es A, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es L, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q,

R, S, T, V, W, o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V; y X₁₆ es F o V; y

en donde dicha variante tiene por lo menos una sustitución de aminoácido relacionada con un dominio SIRP-α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 5.

15. La construcción SIRP-α de cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde dicha variante de un dominio SIRP-α D1 tiene una secuencia de EEEX₁QX₂IQPDKSVLVAAGETX₃TLRCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPGRX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSDX₁₀TX₁₁RNNMDFPIRIGX₁₂ITX₁₃ADAGTYXCX₁₄KX₁₅RKGSPDDVEX₁₆KSGAGTELSVRKPS (SEQ ID NO: 16),

en donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o, I; X₃ es A o V; X₄ es A, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es L, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V; y X₁₆ es F o V; y

en donde dicha variante tiene por lo menos una sustitución de aminoácido relacionada con un dominio SIRP-α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 6.

16. La construcción SIRP-α de cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde dicha variante de un dominio SIRP-α D1 tiene una secuencia de EEEX₁QX₂IQPDKSVLVAAGETX₃TLRCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPGRX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSDX₁₀TX₁₁RNNMDFSIRISX₁₂ITX₁₃ADAGTYXCX₁₄KX₁₅RKGSPDDVEX₁₆KSGAGTELSVRKPS (SEQ ID NO: 19),

en donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o, I; X₃ es A o V; X₄ es A, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es L, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L,

M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X_{13} es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X_{14} es V o I; X_{15} es F, L, o V; y X_{16} es F o V; y

en donde dicha variante tiene por lo menos una sustitución de aminoácido relacionada con un dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 9.

17. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-16, en donde X_1 es L.
18. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-16, en donde X_1 es I.
19. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-16, en donde X_1 es V.
20. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-19, en donde X_2 es V.
21. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-19, en donde X_2 es L.
22. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-19, en donde X_2 es I.
23. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-22, en donde X_3 es A.
24. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-22, en donde X_3 es V.
25. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-24, en donde X_4 es A.
26. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-24, en donde X_4 es I.

27. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-24, en donde X_4 es L.
28. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-27, en donde X_5 es I.
29. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-27, en donde X_5 es T.
30. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-27, en donde X_5 es S.
31. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-27, en donde X_5 es F.
32. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-31, en donde X_6 es E.
33. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-31, en donde X_6 es V.
34. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-31, en donde X_6 es L.
35. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-34, en donde X_7 es K.
36. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-34, en donde X_7 es R.
37. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-36, en donde X_8 es E.
38. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-36, en donde X_8 es Q.
39. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-38, en

donde X_9 es H.

40. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-38, en donde X_9 es P.
41. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-38, en donde X_9 es R.
42. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-41, en donde X_{10} es L.
43. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-41, en donde X_{10} es T.
44. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-41, en donde X_{10} es G.
45. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-44, en donde X_{11} es K.
46. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-44, en donde X_{11} es R.
47. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-46, en donde X_{12} es N.
48. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-46, en donde X_{12} es A.
49. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-46, en donde X_{12} es C.
50. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-46, en donde X_{12} es D.
51. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-46, en donde X_{12} es E.

52. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-46, en donde X_{12} es F.
53. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-46, en donde X_{12} es G.
54. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-46, en donde X_{12} es H.
55. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-46, en donde X_{12} es I.
56. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-46, en donde X_{12} es K.
57. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-46, en donde X_{12} es L.
58. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-46, en donde X_{12} es M.
59. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-46, en donde X_{12} es P.
60. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-46, en donde X_{12} es Q.
61. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-46, en donde X_{12} es R.
62. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-46, en donde X_{12} es S.
63. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-46, en donde X_{12} es T.
64. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-46, en

donde X_{12} es V.

65. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-46, en donde X_{12} es W.
66. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-46, en donde X_{12} es Y.
67. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-66, en donde X_{13} es P.
68. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-66, en donde X_{13} es A.
69. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-66, en donde X_{13} es C.
70. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-66, en donde X_{13} es D.
71. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-66, en donde X_{13} es E.
72. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-66, en donde X_{13} es F.
73. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-66, en donde X_{13} es G.
74. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-66, en donde X_{13} es H.
75. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-66, en donde X_{13} es I.
76. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-66, en donde X_{13} es K.

77. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-66, en donde X_{13} es L.
78. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-66, en donde X_{13} es M.
79. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-66, en donde X_{13} es N.
80. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-66, en donde X_{13} es Q.
81. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-66, en donde X_{13} es R.
82. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-66, en donde X_{13} es S.
83. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-66, en donde X_{13} es T.
84. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-66, en donde X_{13} es V.
85. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-66, en donde X_{13} es W.
86. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-66, en donde X_{13} es Y.
87. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-86, en donde X_{14} es V.
88. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-86, en donde X_{14} es I.
89. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-88, en

donde X_{15} es F.

90. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-88, en donde X_{15} es L.
91. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-88, en donde X_{15} es V.
92. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-91, en donde X_{16} es F.
93. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-91, en donde X_{16} es V.
94. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-93, en donde dicha variante de un dominio SIRP- α D1 comprende no más de diez sustituciones de aminoácidos relacionados con dicho dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 1, 4-6, y 9.
95. La construcción SIRP- α de la reivindicación 94, en donde dicha variante de un dominio SIRP- α D1 comprende no más de siete sustituciones de aminoácidos relacionados con dicho dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 1, 4-6, y 9.
96. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 12-95, en donde dicha variante de un dominio SIRP- α D1 une CD47 con por lo menos una afinidad de unión 10 veces mayor que dicho dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 1, 4-6, y 9.
97. La construcción SIRP- α de la reivindicación 96, en donde dicha variante de un dominio SIRP- α D1 une CD47 con por lo menos una afinidad de

unión 100 veces mayor que dicho dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 1, 4-6, y 9.

98. La construcción SIRP- α de la reivindicación 97, en donde dicha variante de un dominio SIRP- α D1 une CD47 con por lo menos una afinidad de unión 1000 veces mayor que dicho dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 1, 4-6, y 9.

99. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde dicha variante de un dominio SIRP- α D1 tiene una secuencia de EEEX₁QX₂IQPDKSVSVAAGESX₃ILHCTX₄TS LX₅PVGPIQWFRGAGPAR X₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSEX₁₀TX₁₁RENMDFSISISX₁₂ITX₁₃ADAGTY YCX₁₄KX₁₅RKGSPDTEX₁₆KSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 12),

en donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o, I; X₃ es A o V; X₄ es V, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es S, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V; y X₁₆ es F o V; y

en donde dicha variante tiene por lo menos una sustitución de aminoácido relacionada con un dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 2.

100. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde dicha variante de un dominio SIRP- α D1 tiene una secuencia de EEEX₁QX₂IQPDKSVSVAAGESX₃ILLCTX₄TS LX₅PVGPIQWFRGAGPAR X₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSEX₁₀TX₁₁RENMDFSISISX₁₂ITX₁₃ADAGTY YCX₁₄KX₁₅RKGSPDTEX₁₆KSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 13),

en donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o, I; X₃ es A o V; X₄ es V, I, o

L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es S, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V; y X₁₆ es F o V; y

en donde dicha variante tiene por lo menos una sustitución de aminoácido relacionada con un dominio SIRP-α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 3.

101. La construcción SIRP-α de cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde dicha variante de un dominio SIRP-α D1 tiene una secuencia de EEEX₁QX₂IQPDKSVSVAAGESX₃ILHCTX₄TS LX₅PVGPIQWFRGAGPAR X₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSEX₁₀TX₁₁RENMDFSISISX₁₂ITX₁₃ADAGTY YCX₁₄KX₁₅RKGSPDTEX₁₆KSGAGTELSVRGKPS (SEQ ID NO: 17),

en donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o, I; X₃ es A o V; X₄ es V, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es S, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V; y X₁₆ es F o V; y

en donde dicha variante tiene por lo menos una sustitución de aminoácido relacionada con un dominio SIRP-α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 7.

102. La construcción SIRP-α de cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde dicha variante de un dominio SIRP-α D1 tiene una secuencia de EEEX₁QX₂IQPDKSVSVAAGESX₃ILHCTX₄TS LX₅PVGPIQWFRGAGPAR X₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSEX₁₀TX₁₁RENMDFSISISX₁₂ITX₁₃ADAGTY YCX₁₄KX₁₅RKGSPDTEX₁₆KSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 20),

en donde X_1 is L, I, o V; X_2 is V, L, o, I; X_3 is A o V; X_4 is V, I, o L; X_5 is I, T, S, o F; X_6 is E, V, o L; X_7 is K o R; X_8 is E o Q; X_9 is H, P, o R; X_{10} is S, T, o G; X_{11} is K o R; X_{12} is N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X_{13} is P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X_{14} is V o I; X_{15} is F, L, o V; y X_{16} es F o V; y

en donde dicha variante tiene por lo menos una sustitución de aminiácido relacionada con un dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 10.

103. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-102, en donde X_1 es L.
104. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-102, en donde X_1 es I.
105. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-102, en donde X_1 es V.
106. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-105, en donde X_2 es V.
107. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-105, en donde X_2 es L.
108. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-105, en donde X_2 es I.
109. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-108, en donde X_3 es A.
110. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-108, en donde X_3 es V.
111. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-110, en

donde X_4 es V.

112. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-110, en donde X_4 es I.
113. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-110, en donde X_4 es L.
114. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-113, en donde X_5 es I.
115. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-113, en donde X_5 es T.
116. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-113, en donde X_5 es S.
117. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-113, en donde X_5 es F.
118. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-117, en donde X_6 es E.
119. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-117, en donde X_6 es V.
120. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-117, en donde X_6 es L.
121. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-120, en donde X_7 es K.
122. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-120, en donde X_7 es R.
123. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-122, en donde X_8 es E.

124. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-122, en donde X_8 es Q.
125. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-124, en donde X_9 es H.
126. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-124, en donde X_9 es P.
127. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-124, en donde X_9 es R.
128. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-127, en donde X_{10} es S.
129. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-127, en donde X_{10} es T.
130. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-127, en donde X_{10} es G.
131. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-130, en donde X_{11} es K.
132. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-130, en donde X_{11} es R.
133. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-132, en donde X_{12} es N.
134. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-132, en donde X_{12} es A.
135. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-132, en donde X_{12} es C.
136. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-132, en

donde X_{12} es D.

137. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-132, en donde X_{12} es E.
138. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-132, en donde X_{12} es F.
139. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-132, en donde X_{12} es G.
140. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-132, en donde X_{12} es H.
141. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-132, en donde X_{12} es I.
142. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-132, en donde X_{12} es K.
143. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-132, en donde X_{12} es L.
144. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-132, en donde X_{12} es M.
145. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-132, en donde X_{12} es P.
146. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-132, en donde X_{12} es Q.
147. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-132, en donde X_{12} es R.
148. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-132, en donde X_{12} es S.

149. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-132, en donde X_{12} es T.
150. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-132, en donde X_{12} es V.
151. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-132, en donde X_{12} es W.
152. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-132, en donde X_{12} es Y.
153. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-152, en donde X_{13} es P.
154. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-152, en donde X_{13} es A.
155. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-152, en donde X_{13} es C.
156. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-152, en donde X_{13} es D.
157. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-152, en donde X_{13} es E.
158. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-152, en donde X_{13} es F.
159. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-152, en donde X_{13} es G.
160. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-152, en donde X_{13} es H.
161. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-152, en

donde X_{13} es I.

162. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-152, en donde X_{13} es K.
163. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-152, en donde X_{13} es L.
164. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-152, en donde X_{13} es M.
165. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-152, en donde X_{13} es N.
166. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-152, en donde X_{13} es Q.
167. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-152, en donde X_{13} es R.
168. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-152, en donde X_{13} es S.
169. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-152, en donde X_{13} es T.
170. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-152, en donde X_{13} es V.
171. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-152, en donde X_{13} es W.
172. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-152, en donde X_{13} es Y.
173. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-172, en donde X_{14} es V.

174. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-172, en donde X_{14} es I.
175. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-174, en donde X_{15} es F.
176. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-174, en donde X_{15} es L.
177. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-174, en donde X_{15} es V.
178. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-177, en donde X_{16} es F.
179. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-177, en donde X_{16} es V.
180. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-179, en donde dicha variante de un dominio SIRP- α D1 comprende no más de diez sustituciones de aminoácidos relacionados con dicho dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 2, 3, 7, y 10.
181. La construcción SIRP- α de la reivindicación 180, en donde dicha variante de un dominio SIRP- α D1 comprende no más de siete sustituciones de aminoácidos relacionados con dicho dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 2, 3, 7, y 10.
182. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 99-181, en donde dicha variante de un dominio SIRP- α D1 une CD47 con por lo menos una afinidad de unión 10 veces mayor que dicho dominio SIRP- α

D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 2, 3, 7, y 10.

183. La construcción SIRP- α de la reivindicación 182, en donde dicha variante de un dominio SIRP- α D1 une CD47 con por lo menos una afinidad de unión 100 veces mayor que dicho dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 2, 3, 7, y 10.
184. La construcción SIRP- α de la reivindicación 183, en donde dicha variante de un dominio SIRP- α D1 une CD47 con por lo menos una afinidad de unión 1000 veces mayor que dicho dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 2, 3, 7, y 10.
185. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde dicha variante de un dominio SIRP- α D1 tiene una secuencia de EEEX₁QX₂IQPDKSVLVAAGETX₃TLRCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPARX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSEX₁₀TX₁₁RENMDFSISISX₁₂ITX₁₃ADAGTY YCX₁₄KX₁₅RKGSPDTEX₁₆KSGAGTELSVRAPKPS (SEQ ID NO: 18),
 en donde X₁ is L, I, o V; X₂ is V, L, o, I; X₃ is A o V; X₄ is A, I, o L; X₅ is I, T, S, o F; X₆ is E, V, o L; X₇ is K o R; X₈ is E o Q; X₉ is H, P, o R; X₁₀ is S, T, o G; X₁₁ is K o R; X₁₂ is N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₃ is P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₄ is V o I; X₁₅ is F, L, o V; y X₁₆ is F o V; y
 en donde dicha variante tiene por lo menos una sustitución de aminoácido relacionada con un dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 8.

186. La construcción SIRP- α de la reivindicación 185, en donde X_1 es L.
187. La construcción SIRP- α de la reivindicación 185, en donde X_1 es I.
188. La construcción SIRP- α de la reivindicación 185, en donde X_1 es V.
189. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-188, en donde X_2 es V.
190. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-188, en donde X_2 es L.
191. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-188, en donde X_2 es I.
192. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-191, en donde X_3 es A.
193. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-191, en donde X_3 es V.
194. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-193, en donde X_4 es A.
195. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-193, en donde X_4 es I.
196. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-193, en donde X_4 es L.
197. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-196, en donde X_5 es I.
198. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-196, en donde X_5 es T.
199. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-196, en donde X_5 es S.

200. La construcción $SIRP-\alpha$ de cualquiera de las reivindicaciones 185-196, en donde X_5 es F.
201. La construcción $SIRP-\alpha$ de cualquiera de las reivindicaciones 185-200, en donde X_6 es E.
202. La construcción $SIRP-\alpha$ de cualquiera de las reivindicaciones 185-200, en donde X_6 es V.
203. La construcción $SIRP-\alpha$ de cualquiera de las reivindicaciones 185-200, en donde X_6 es L.
204. La construcción $SIRP-\alpha$ de cualquiera de las reivindicaciones 185-203, en donde X_7 es K.
205. La construcción $SIRP-\alpha$ de cualquiera de las reivindicaciones 185-203, en donde X_7 es R.
206. La construcción $SIRP-\alpha$ de cualquiera de las reivindicaciones 185-205, en donde X_8 es E.
207. La construcción $SIRP-\alpha$ de cualquiera de las reivindicaciones 185-205, en donde X_8 es Q.
208. La construcción $SIRP-\alpha$ de cualquiera de las reivindicaciones 185-207, en donde X_9 es H.
209. La construcción $SIRP-\alpha$ de cualquiera de las reivindicaciones 185-207, en donde X_9 es P.
210. La construcción $SIRP-\alpha$ de cualquiera de las reivindicaciones 185-207, en donde X_9 es R.
211. La construcción $SIRP-\alpha$ de cualquiera de las reivindicaciones 185-210, en donde X_{10} es S.
212. La construcción $SIRP-\alpha$ de cualquiera de las reivindicaciones 185-210,

en donde X_{10} es T.

213. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-210, en donde X_{10} es G.
214. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-213, en donde X_{11} es K.
215. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-213, en donde X_{11} es R.
216. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-215, en donde X_{12} es N.
217. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-215, en donde X_{12} es A.
218. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-215, en donde X_{12} es C.
219. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-215, en donde X_{12} es D.
220. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-215, en donde X_{12} es E.
221. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-215, en donde X_{12} es F.
222. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-215, en donde X_{12} es G.
223. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-215, en donde X_{12} es H.
224. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-215, en donde X_{12} es I.

- 225. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-215, en donde X_{12} es K.
- 226. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-215, en donde X_{12} es L.
- 227. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-215, en donde X_{12} es M.
- 228. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-215, en donde X_{12} es P.
- 229. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-215, en donde X_{12} es Q.
- 230. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-215, en donde X_{12} es R.
- 231. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-215, en donde X_{12} es S.
- 232. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-215, en donde X_{12} es T.
- 233. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-215, en donde X_{12} es V.
- 234. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-215, en donde X_{12} es W.
- 235. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-215, en donde X_{12} es Y.
- 236. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-235, en donde X_{13} es P.
- 237. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-235,

en donde X_{13} es A.

- 238. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-235, en donde X_{13} es C.
- 239. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-235, en donde X_{13} es D.
- 240. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-235, en donde X_{13} es E.
- 241. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-235, en donde X_{13} es F.
- 242. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-235, en donde X_{13} es G.
- 243. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-235, en donde X_{13} es H.
- 244. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-235, en donde X_{13} es I.
- 245. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-235, en donde X_{13} es K.
- 246. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-235, en donde X_{13} es L.
- 247. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-235, en donde X_{13} es M.
- 248. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-235, en donde X_{13} es N.
- 249. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-235, en donde X_{13} es Q.

- 250. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-235, en donde X_{13} es R.
- 251. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-235, en donde X_{13} es S.
- 252. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-235, en donde X_{13} es T.
- 253. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-235, en donde X_{13} es V.
- 254. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-235, en donde X_{13} es W.
- 255. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-235, en donde X_{13} es Y.
- 256. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-255, en donde X_{14} es V.
- 257. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-255, en donde X_{14} es I.
- 258. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-257, en donde X_{15} es F.
- 259. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-257, en donde X_{15} es L.
- 260. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-257, en donde X_{15} es V.
- 261. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-260, en donde X_{16} es F.
- 262. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-260,

en donde X_{16} es V.

263. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-262, en donde dicha variante de un dominio SIRP- α D1 comprende no más de diez sustituciones de aminoácidos reñacionadas con dicho dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 8.
264. La construcción SIRP- α de la reivindicación 263, en donde dicha variante de un dominio SIRP- α D1 comprende no más de siete sustituciones de aminoácidos reñacionadas con dicho dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 8.
265. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 185-264, en donde dicha variante de un dominio SIRP- α D1 une CD47 con por lo menos una afinidad de unión 10 veces mayor que dicho dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 8.
266. La construcción SIRP- α de la reivindicación 265, en donde dicha variante de un dominio SIRP- α D1 une CD47 con por lo menos una afinidad de unión 100 veces mayor que dicho dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 8.
267. La construcción SIRP- α de la reivindicación 266, en donde dicha variante de un dominio SIRP- α D1 une CD47 con por lo menos una afinidad de unión 1000 veces mayor que dicho dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 8.
268. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde dicha variante de un dominio SIRP- α D1 tiene una secuencia de EEX₁X₂QX₃IQPKX₄VX₅VAAGEX₆X₇X₈LX₉CTX₁₀TSLX₁₁PVGPIQWFRG AGPX₁₂RX₁₃LIYNQX₁₄X₁₅GX₁₆FPRVTTVSX₁₇X₁₈TX₁₉RX₂₀NMDFX₂₁IX₂₂I

X₂₃X₂₄ITX₂₅ADAGTYCYCX₂₆KX₂₇RKGSPDX₂₈X₂₉EX₃₀KSGAGTELSVRX₃₁

KPS (SEQ ID NO: 21),

en donde X₁ es E o G; X₂ es L, I, o V; X₃ es V, L, o, I; X₄ es S o F; X₅ es L o S; X₆ es S o T; X₇ es A o V; X₈ es I o T; X₉ es H o R; X₁₀ es A, V, I, o L; X₁₁ es I, T, S, o F; X₁₂ es A o G; X₁₃ es E, V, o L; X₁₄ es K o R; X₁₅ es E o Q; X₁₆ es H, P, o R; X₁₇ es D o E; X₁₈ es S, L, T, o G; X₁₉ es K o R; X₂₀ es E o N; X₂₁ es S o P; X₂₂ es S o R; X₂₃ es S o G; X₂₄ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₂₅ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₂₆ es V o I; X₂₇ es F, L, V; X₂₈ es D o ausente; X₂₉ es T o V; X₃₀ es F o V; y X₃₁ es A o G; y

en donde dicha variante tiene por lo menos una sustitución de aminiácido relacionada con un dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 1-10.

269. La construcción SIRP- α de la reivindicación 268, en donde X₁ es E.
270. La construcción SIRP- α de la reivindicación 268, en donde X₁ es G.
271. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-270, en donde X₂ es L.
272. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-270, en donde X₂ es I.
273. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-270, en donde X₂ es V.
274. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-273, en donde X₃ es V.
275. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-273, en donde X₃ es L.

- 276. La construcción $SIRP-\alpha$ de cualquiera de las reivindicaciones 268-273, en donde X_3 es I.
- 277. La construcción $SIRP-\alpha$ de cualquiera de las reivindicaciones 268-276, en donde X_4 es S.
- 278. La construcción $SIRP-\alpha$ de cualquiera de las reivindicaciones 268-276, en donde X_4 es F.
- 279. La construcción $SIRP-\alpha$ de cualquiera de las reivindicaciones 268-278, en donde X_5 es L.
- 280. La construcción $SIRP-\alpha$ de cualquiera de las reivindicaciones 268-278, en donde X_5 es S.
- 281. La construcción $SIRP-\alpha$ de cualquiera de las reivindicaciones 268-280, en donde X_6 es S.
- 282. La construcción $SIRP-\alpha$ de cualquiera de las reivindicaciones 268-280, en donde X_6 es T.
- 283. La construcción $SIRP-\alpha$ de cualquiera de las reivindicaciones 268-282, en donde X_7 es A.
- 284. La construcción $SIRP-\alpha$ de cualquiera de las reivindicaciones 268-282, en donde X_7 es V.
- 285. La construcción $SIRP-\alpha$ de cualquiera de las reivindicaciones 268-284, en donde X_8 es I.
- 286. La construcción $SIRP-\alpha$ de cualquiera de las reivindicaciones 268-284, en donde X_8 es T.
- 287. La construcción $SIRP-\alpha$ de cualquiera de las reivindicaciones 268-286, en donde X_9 es H.
- 288. La construcción $SIRP-\alpha$ de cualquiera de las reivindicaciones 268-286,

en donde X_9 es R.

289. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-288, en donde X_{10} es A.
290. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-288, en donde X_{10} es V.
291. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-288, en donde X_{10} es I.
292. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-288, en donde X_{10} es L.
293. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-292, en donde X_{11} es I.
294. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-292, en donde X_{11} es T.
295. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-292, en donde X_{11} es S.
296. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-292, en donde X_{11} es F.
297. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-296, en donde X_{12} es A.
298. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-296, en donde X_{12} es G.
299. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-298, en donde X_{13} es E.
300. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-298, en donde X_{13} es V.

301. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-298, en donde X_{13} es L.
302. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-301, en donde X_{14} es K.
303. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-301, en donde X_{14} es R.
304. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-303, en donde X_{15} es E.
305. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-303, en donde X_{15} es Q.
306. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-305, en donde X_{16} es H.
307. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-305, en donde X_{16} es P.
308. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-305, en donde X_{16} es R.
309. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-308, en donde X_{17} es D.
310. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-308, en donde X_{17} es E.
311. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-310, en donde X_{18} es S.
312. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-310, en donde X_{18} es L.
313. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-310,

en donde X_{18} es T.

314. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-310, en donde X_{18} es G.
315. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-314, en donde X_{19} es K.
316. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-314, en donde X_{19} es R.
317. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-316, en donde X_{20} es E.
318. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-316, en donde X_{20} es N.
319. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-318, en donde X_{21} es S.
320. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-318, en donde X_{21} es P.
321. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-320, en donde X_{22} es S.
322. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-320, en donde X_{22} es R.
323. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-322, en donde X_{23} es S.
324. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-322, en donde X_{23} es G.
325. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-324, en donde X_{24} es N.

- 326. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-324, en donde X_{24} es A.
- 327. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-324, en donde X_{24} es C.
- 328. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-324, en donde X_{24} es D.
- 329. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-324, en donde X_{24} es E.
- 330. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-324, en donde X_{24} es F.
- 331. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-324, en donde X_{24} es G.
- 332. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-324, en donde X_{24} es H.
- 333. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-324, en donde X_{24} es I.
- 334. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-324, en donde X_{24} es K.
- 335. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-324, en donde X_{24} es L.
- 336. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-324, en donde X_{24} es M.
- 337. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-324, en donde X_{24} es P.
- 338. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-324,

en donde X_{24} es Q.

- 339. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-324, en donde X_{24} es R.
- 340. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-324, en donde X_{24} es S.
- 341. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-324, en donde X_{24} es T.
- 342. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-324, en donde X_{24} es V.
- 343. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-324, en donde X_{24} es W.
- 344. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-324, en donde X_{24} es Y.
- 345. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-344, en donde X_{25} es P.
- 346. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-344, en donde X_{25} es A.
- 347. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-344, en donde X_{25} es C.
- 348. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-344, en donde X_{25} es D.
- 349. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-344, en donde X_{25} es E.
- 350. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-344, en donde X_{25} es F.

- 351. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-344, en donde X_{25} es G.
- 352. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-344, en donde X_{25} es H.
- 353. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-344, en donde X_{25} es I.
- 354. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-344, en donde X_{25} es K.
- 355. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-344, en donde X_{25} es L.
- 356. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-344, en donde X_{25} es M.
- 357. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-344, en donde X_{25} es N.
- 358. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-344, en donde X_{25} es Q.
- 359. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-344, en donde X_{25} es R.
- 360. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-344, en donde X_{25} es S.
- 361. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-344, en donde X_{25} es T.
- 362. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-344, en donde X_{25} es V.
- 363. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-344,

en donde X_{25} es W.

364. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-344, en donde X_{25} es Y.
365. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-364, en donde X_{26} es V.
366. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-364, en donde X_{26} es I.
367. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-366, en donde X_{27} es F.
368. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-366, en donde X_{27} es L.
369. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-366, en donde X_{27} es V.
370. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-369, en donde X_{28} es D.
371. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-369, en donde X_{28} es ausente.
372. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-371, en donde X_{29} es T.
373. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-371, en donde X_{29} es V.
374. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-373, en donde X_{30} es F.
375. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-373, en donde X_{30} es V.

376. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-375, en donde X_{31} es A.
377. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-375, en donde X_{31} es G.
378. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-377, en donde dicha variante de un dominio SIRP- α D1 comprende no más de diez sustituciones de aminoácidos relacionados con dicho dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 1-10.
379. La construcción SIRP- α de la reivindicación 378, en donde dicha variante de un dominio SIRP- α D1 comprende no más de siete sustituciones de aminoácidos relacionados con dicho dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 1-10.
380. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 268-379, en donde dicha variante de un dominio SIRP- α D1 une CD47 con por lo menos una afinidad de unión 10 veces mayor que dicho dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 1-10.
381. La construcción SIRP- α de la reivindicación 380, en donde dicha variante de un dominio SIRP- α D1 une CD47 con por lo menos una afinidad de unión 100 veces mayor que dicho dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 1-10.
382. La construcción SIRP- α de la reivindicación 381, en donde dicha variante de un dominio SIRP- α D1 une CD47 con por lo menos una

afinidad de unión 1000 veces mayor que dicho dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-10.

383. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 1-382, en donde dicho dominio SIRP- α D1 o variante del mismo no tiene la secuencia de

EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLIPVGPIQWFRGAGPARELIYN
QREGHFPRVTTVSETTRRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKFRKGSPD
TEVKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 22);
EEEVQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTLTSLIPVGPIQWFRGAGPARVLIY
NQRQGHFPRVTTVSEGTRRENMDFSISISNITPADAGTYYCIKFRKGSP
DTEFKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 23);
EEEVQIIQPDKSVSVAAGESVILHCTITSLTPVGPIQWFRGAGPARLLIYN
QREGPFPRVTTVSETTRRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKLRKGSPD
TEFKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 24);
EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLSPVGPIQWFRGAGPARVLIYN
QRQGPFPVTTVSEGTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCIKLRKGSPD
TEFKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 25);
EEEIQVIQPDKSVSVAAGESVIIHCTVTSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIY
NQRQGRFPRVTTVSEGTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKVRKGS
PDTEVKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 26);
EEEVQIIQPDKSVSVAAGESIILHCTVTSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIY
NQREGRFPRVTTVSEGTRRENMDFSISISNITPADAGTYYCIKLRKGSP
DTEFKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 27);
EEEVQLIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIY
NQREGPFPRVTTVSEGTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCIKFRKGSP

DTEVKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 28);
 EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRVLIY
 NQRQGPFPRTTVSDTTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYCYKFRKGSP
 DDVEFKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 29);
 EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARLLIYN
 QRQGPFPRTTVSETTKRENMDFSISISNITPADAGTYCYVKFRKGSPD
 TEFKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 30);
 EEEVQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIY
 NQKQGPFPRTTISETTTRENMDFSISISNITPADAGTYCYKFRKGSPD
 TEFKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 31); o
 EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLTPVGPIQWFRGAGPARVLIYN
 QRQGPFPRTTVSEGTRRENMDFSISISNITPADAGTYCYKFRKGSPD
 TEVKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 32).

384. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 1-383, en donde dicho dominio SIRP- α D1 o variante del mismo además comprende un dominio SIRP- α D2 y/o un dominio SIRP- α D3.
385. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 1-384, en donde dicho primer y segundo monómero de dominio Fcs comprende sustituciones de aminoácidos que promueven la heterodimerización entre dicho primer y segundo monómero de dominio Fcs.
386. La construcción SIRP- α de la reivindicación 385, en donde each of dicho primer y segundo monómero de dominio Fcs comprende una o más de las siguientes sustituciones de aminoácidos: T366W, T366S, L368A, Y407V, T366Y, T394W, F405W, Y349T, Y349E, Y349V, L351T, L351H, L351N, L352K, P353S, S354D, D356K, D356R, D356S, E357K, E357R,

E357Q, S364A, T366E, L368T, L368Y, L368E, K370E, K370D, K370Q, K392E, K392D, T394N, P395N, P396T, V397T, V397Q, L398T, D399K, D399R, D399N, F405T, F405H, F405R, Y407T, Y407H, Y407I, K409E, K409D, K409T, y K409I, en relación con la secuencia de IgG1 humano.

387. La construcción SIRP- α de la reivindicación 385 o 386, en donde dicho primer y segundo monómero de dominio Fcs comprende sustituciones de aminoácidos diferentes.
388. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 385-387, en donde dicho primer monómero de dominio Fc comprende T366W.
389. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 385-388, en donde dicho segundo monómero de dominio Fc comprende T366S, L368A, y Y407V.
390. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 385-389, en donde dicho primer monómero de dominio Fc comprende D399K.
391. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 385-390, en donde dicho segundo monómero de dominio Fc comprende K409D.
392. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 385-391, en donde dicho dominio Fc tiene unión de receptor Fcy reducida.
393. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 385-392, en donde dicho dominio Fc es de un anticuerpo IgG1 y dicho primer y/o segundo monómero de dominio Fcs comprende L14A, L15A, y G17A, en relación con la secuencia de SEQ ID NO: 35.
394. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 385-393, en donde dicho dominio Fc es de un Anticuerpo IgG2 o IgG4.
395. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 385-394,

en donde dicho dominio se un anticuerpo IgG2 comprende las sustituciones de aminoácido A111S y P112S, en relación con la secuencia de SEQ ID NO: 36.

396. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 1-395, en donde dicha construcción SIRP- α tiene inmunogenicidad mínima.
397. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 1-396, en donde dicha construcción SIRP- α tiene una afinidad optimizada a CD47.
398. La construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 1-397, en donde dicha construcción SIRP- α has optimized pharmacokinetics.
399. Un método para preparar una construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 1-398, método que comprende:
 - a) proveer una célula huésped que comprende moléculas de ácido nucleico que codifican dichos polipéptidos;
 - b) expresar dichos polipéptidos en dicha célula huésped bajo condiciones que permiten la formación de dicha construcción SIRP- α ; y
 - c) recuperar dicha construcción SIRP- α .
400. Una célula huésped que expresa una construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 1-398, dicha célula huésped que codifican moléculas de ácido nucleico que codifican dichos polipéptidos, en donde dichas moléculas de ácido nucleico son expresadas en dicha célula huésped.
401. Una composición farmacéutica que comprende una construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 1-398 y uno o más vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables.

402. La composición farmacéutica de la reivindicación 401, en donde dicha construcción está en una cantidad terapéuticamente aceptable.
403. Un método para matar una célula cancerígena, dicho método que comprende poner en contacto dicha célula cancerígena con una construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 1-398 o una composición farmacéutica de la reivindicación 401 o 402.
404. Un método para tratar una enfermedad asociada con la actividad SIRP- α y/o CD47 en un sujeto, dicho método que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de una construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 1-398 o una composición farmacéutica de la reivindicación 401 o 402.
405. Un método para tratar una enfermedad asociada con la actividad SIRP- α y/o CD47 en un sujeto, método que comprende;
- (a) determinar la secuencia de aminoácidos de SIRP- α del sujeto; y
 - (b) administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de una construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 1-398 o una composición farmacéutica de la reivindicación 401 o 402;
- en donde dicho dominio SIRP- α D1 o variant del mismo en dicha construcción SIRP- α tiene la misma secuencia de aminoácidos que la de una SIRP- α en dicho sujeto.
406. Un método para tratar una enfermedad asociada con la actividad SIRP- α y/o CD47 en un sujeto, método que comprende;
- (a) determinar la secuencia de aminoácidos de SIRP- α del sujeto; y
 - (b) administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva

de una construcción SIRP- α de cualquiera de las reivindicaciones 1-398 o una composición farmacéutica de la reivindicación 401 o 402;

en donde dicha construcción SIRP- α tiene inmunogenicidad mínima en dicho sujeto.

407. El método de cualquiera de las reivindicaciones 404-406, en donde dicha enfermedad es cáncer.
408. El método de la reivindicación 407, en donde dicho cáncer se selecciona entre cáncer de tumor sólido, cáncer hematológico, leucemia mieloide aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia mieloide crónica, leucemia linfoblástica aguda, linfoma no Hodgkin, linfoma de Hodgkin, mieloma múltiple, cáncer de vejiga, cáncer de páncreas, cáncer de cuello uterino, cáncer de endometrio, cáncer de pulmón, cáncer de los bronquios, cáncer de hígado, cáncer de ovario, cáncer de colon y recto, cáncer de estómago, cáncer gástrico, cáncer de vesícula, cáncer con tumor del estroma gastrointestinal, cáncer de tiroides, cáncer de cabeza y cuellos, cáncer orofaríngeo, cáncer de esófago, melanoma, cáncer de piel (no melanoma), carcinoma de células de Merkel, cáncer inducido por virus, neuroblastoma, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer renal, cáncer de células renales, cáncer de la pelvis renal, leucemia, linfoma, sarcoma, glioma, tumor de cerebro y carcinoma.
409. El método de la reivindicación 408, en donde dicho cáncer es un cáncer de tumor sólido.
410. El método de la reivindicación 408, en donde dicho cáncer es un cáncer hematológico.
411. El método de cualquiera de las reivindicaciones 404-406, en donde dicho

enfermedad es una enfermedad inmunológica.

412. El método de la reivindicación 411, en donde dicha enfermedad inmunológica es una enfermedad autoinmune o una enfermedad inflamatoria.
413. El método de la reivindicación 412, en donde dicha enfermedad autoinmune o inflamatoria es esclerosis múltiple, artritis reumatoide, una espondiloartropatía, lupus eritematoso sistémico, una enfermedad inflamatoria o autoinmune mediada por anticuerpos, enfermedad de injerto versus huésped, sepsis, diabetes, psoriasis, aterosclerosis, síndrome de Sjogren, esclerosis sistémica progresiva, escleroderma, síndrome coronario agudo, reperfusión isquémica, enfermedad de Crohn, endometriosis, glomerulonefritis, miastenia grave, fibrosis pulmonar idiopática, asma, síndrome de dificultad respiratoria aguda (ARDS), vasculitis o miositis autoinmune inflamatoria.
414. Un método para aumentar injerto de células madre hematopoyéticas en un sujeto que incluye modular la interacción entre SIRP- α y CD47 en el sujeto mediante la administración al sujeto de un polipéptido de cualquiera de las reivindicaciones 1-398 o una composición farmacéutica de la reivindicación 401 o 402.
415. Un método para alterar una respuesta inmunológica en un sujeto que incluye administrar al sujeto un polipéptido de cualquiera de las reivindicaciones 1-398 o una composición farmacéutica de la reivindicación 401 o 402, , alterando de esa manera la respuesta inmunológica en el sujeto.
416. El método de la reivindicación 415, en donde alterar la respuesta inmunológica comprende suprimir la respuesta inmunológica.

RESUMEN

Construcciones de la proteína reguladora de señales α (SIRP- α) que son útiles, por ejemplo, para hacer blanco en una célula (por ejemplo, una célula de cáncer o una célula del sistema inmunológico), para aumentar la fagocitosis de la célula blanco, para eliminar las células T reguladoras, para matar células cancerígenas, y/o para tratar una enfermedad (por ejemplo, el cáncer) en un sujeto. Las construcciones SIRP- α incluyen un dominio D1 de SIRP- α o una variante del mismo. En algunas formas de realización, las construcciones SIRP- α incluyen un dominio D1 de SIRP- α o una variante del mismo y un dominio variable de anticuerpo.

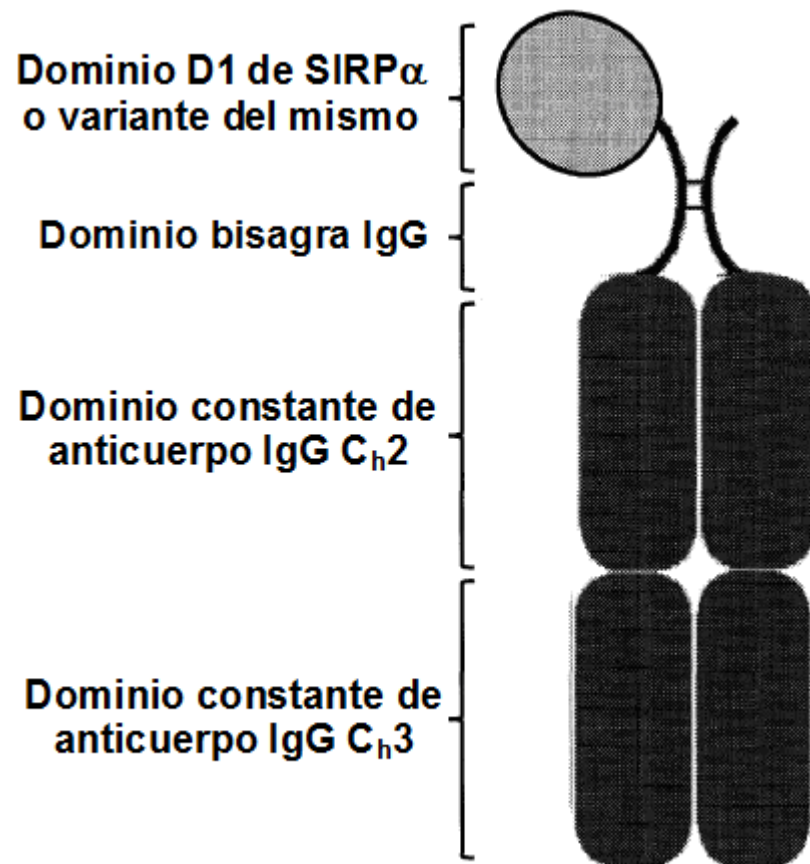


FIG. 1

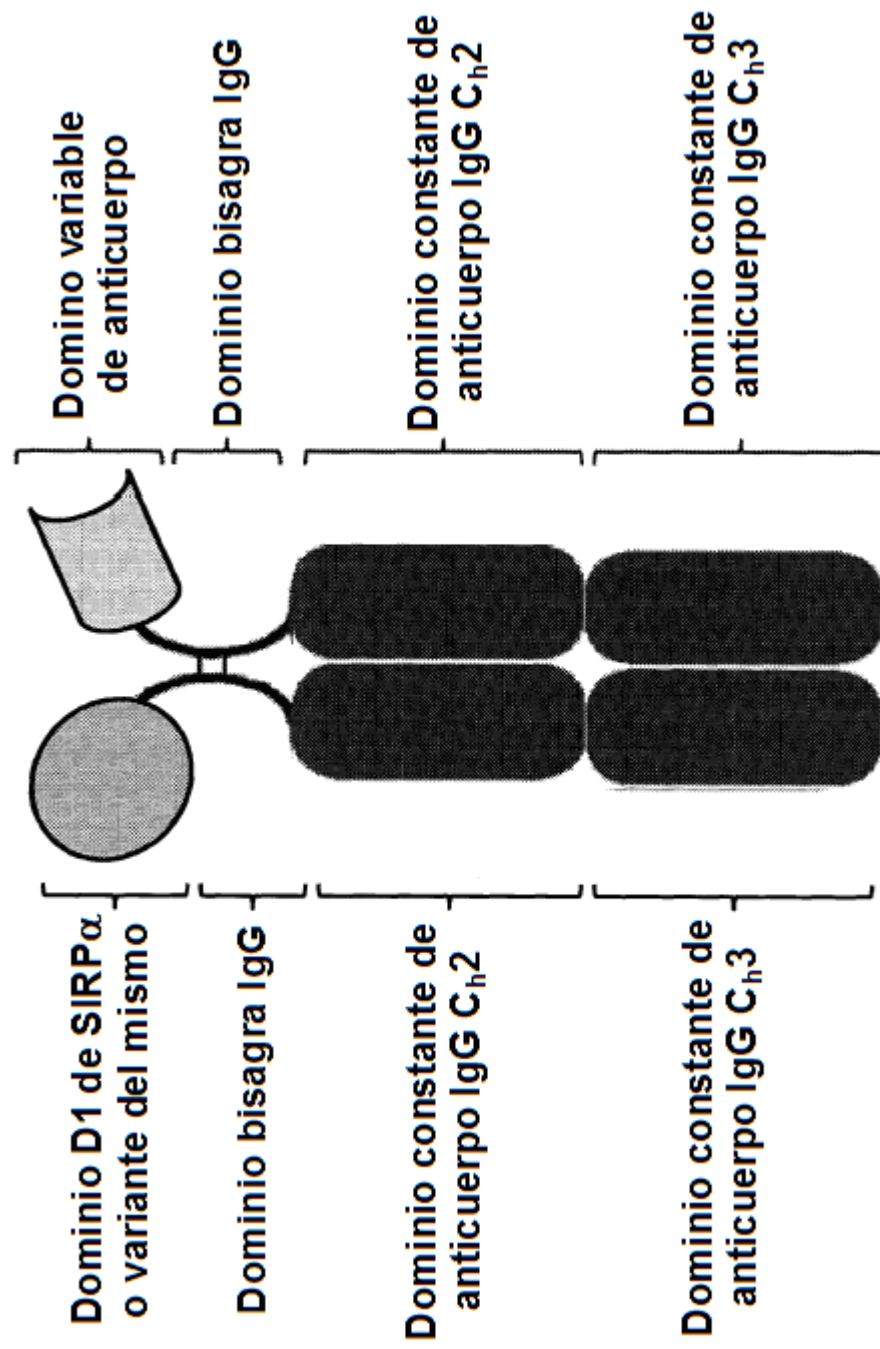
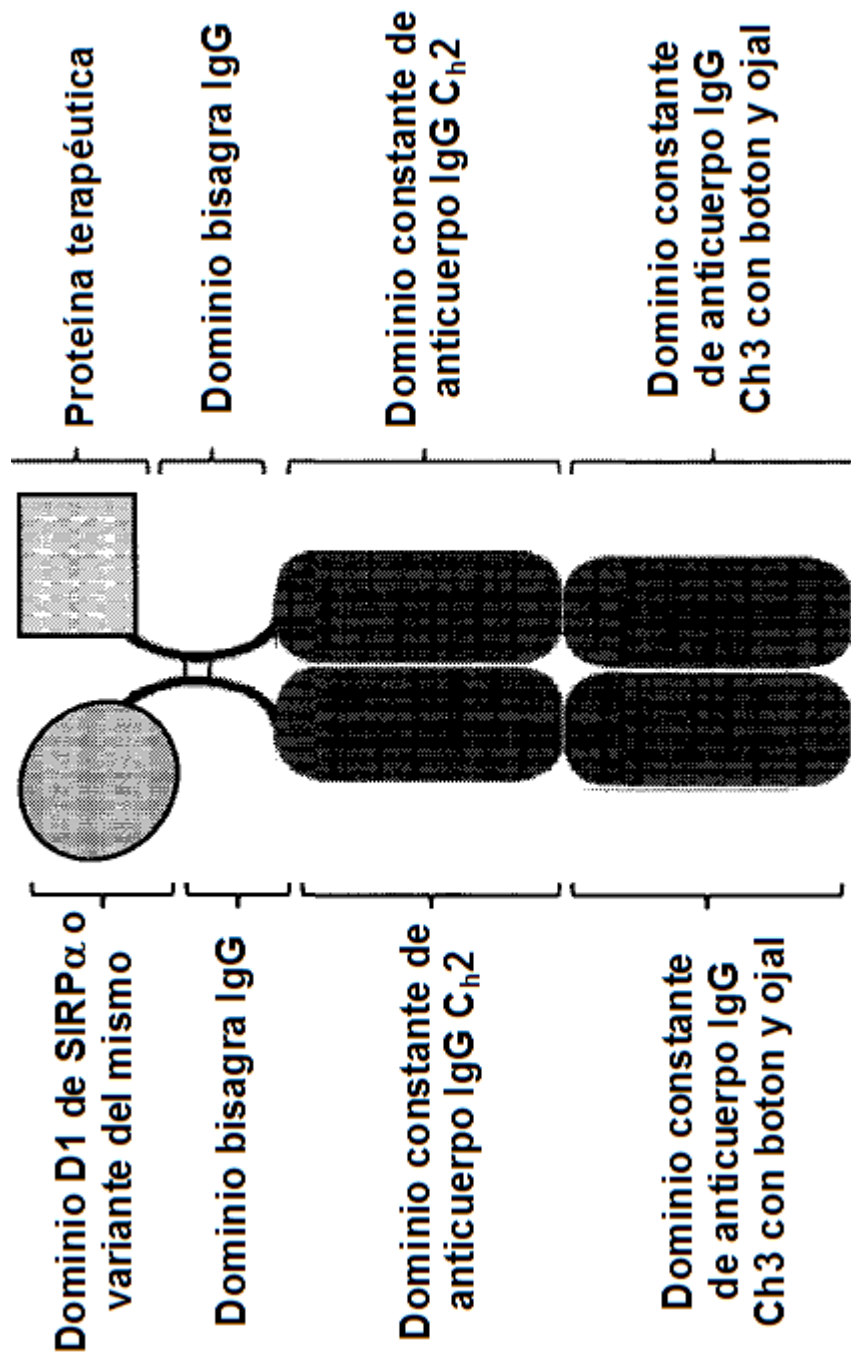
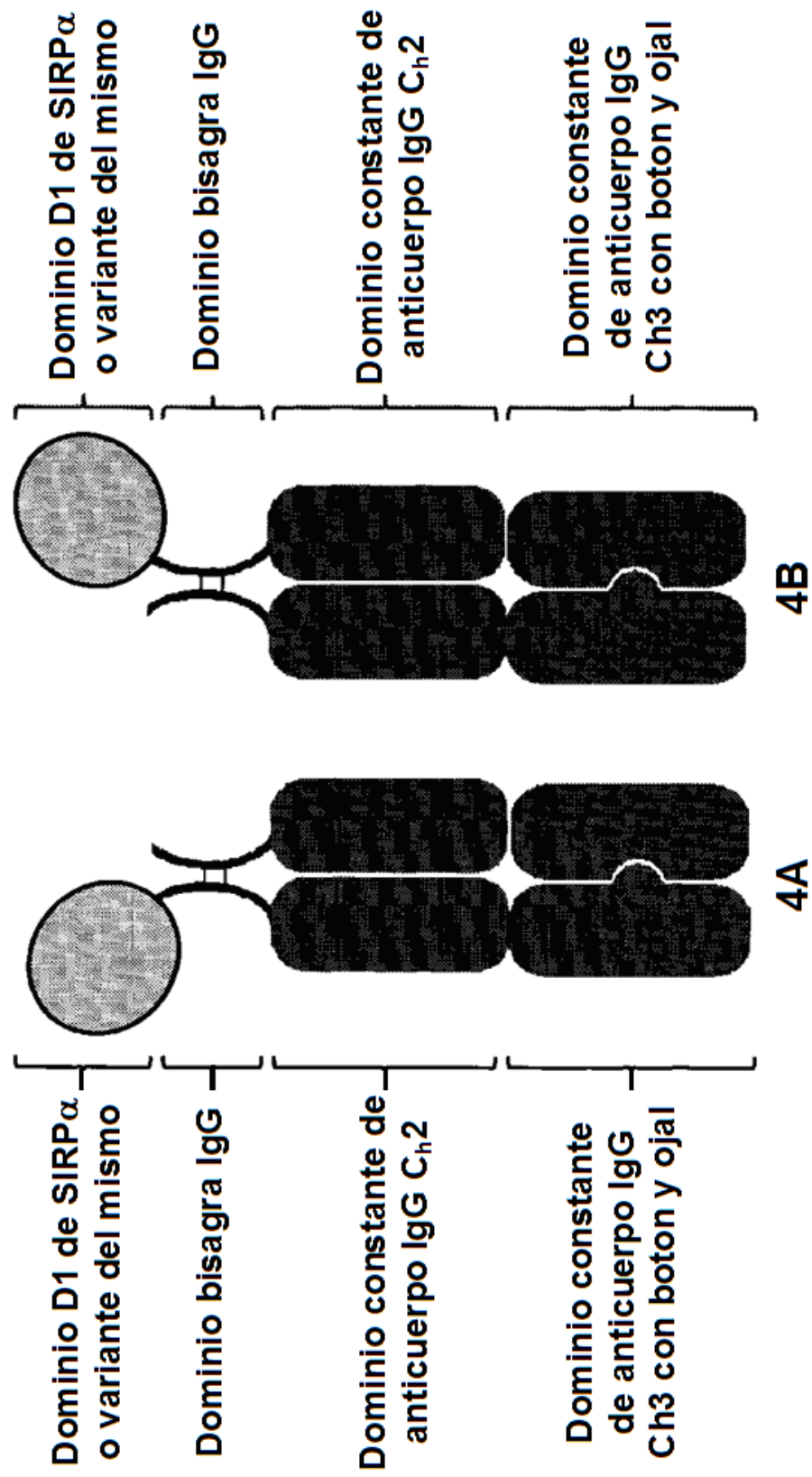


FIG. 2

**FIG. 3**



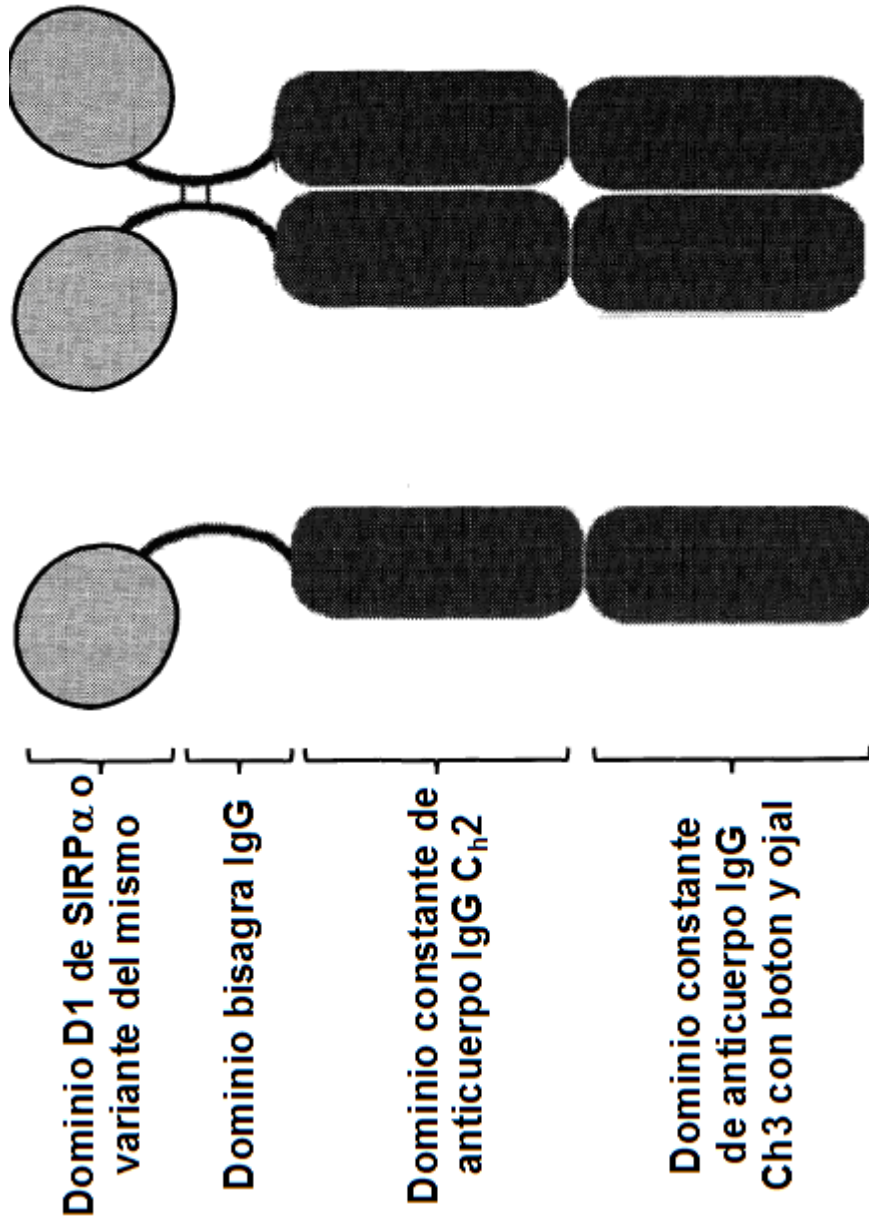


FIG. 5B

FIG. 5A

PÁGINA DE DATOS TÉCNICOS DE LA SOLICITUD Art. 1.76 del CFR 37	Expediente de agente N°:	51073-003002
	Número de la solicitud:	-
Título de la invención: CONSTRUCCIONES QUE TIENEN UN DOMINIO SIRP-ALFA O VARIANTES DE LAS MISMAS -----		
La página de datos técnicos de la solicitud constituye parte de la solicitud provisional o no provisional para la cual se presente. El formulario siguiente contiene los datos bibliográficos dispuestos en un formato especificado por la Oficina de Patentes y marcas de los EE UU según el art 1.76 del CFR 37. Este documento puede ser completado electrónicamente y enviado a la Oficina en formato electrónico utilizando el sistema de Presentaciones electrónicas (EFS) o el documento puede ser impreso e incluido en una solicitud presentada impresa en papel.-----		

Inventor 1

Nombre:	Jaume
Apellido:	PONS
Residencia:	Residente de los Estados Unidos
Ciudad:	San Francisco
Estado:	CA
País:	EE.UU.
Dirección postal del solicitante:	4598 17th st
Ciudad:	San Francisco
Estado:	CA
Código postal:	94114
País:	EE.UU.

Inventor 2

Nombre:	Laura
Apellido:	DEMING
Residencia:	Residente de los Estados Unidos
Ciudad:	Palo Alto
Estado:	CA
País:	EE.UU.
Dirección postal del solicitante:	555 Bryant St #517
Ciudad:	Palo Alto
Estado:	CA
Código postal:	94301
País:	EE.UU.

Inventor 3

Nombre:	Corey
Apellido:	GOODMAN
Residencia:	Residente de los Estados Unidos
Ciudad:	Marshall
Estado:	CA
País:	EE.UU.
Dirección postal del solicitante:	PO Box 803
Ciudad:	Marshall
Estado:	CA
Código postal:	94940
País:	EE.UU.

Información para envíos postales (Escriba el número de cliente o complete los casilleros que figuran a continuación)

Número de cliente:	21559
--------------------	-------

Información sobre la solicitud

Información sobre la solicitud		
Título de la invención:	CONSTRUCCIONES QUE TIENEN UN DOMINIO SIRP-ALFA O VARIANTES DE LAS MISMAS	
Expediente de agente N°:	51073-003002	Se reivindica el status de pequeña empresa
Tipo de solicitud:	Provisional	
Tema:	Utilidad	
Cantidad total de páginas de dibujos si las hubiere:	5	

Información sobre el representante

Se proveerán los datos de todos los representantes que posean un poder con respecto a la presente solicitud. La provisión de esta información no constituye un poder en la solicitud (véase art 1.32 del CFR 37). Proveer el nombre del cliente o completar los casilleros que figuran a continuación con el nombre del representante. En caso de completarse ambas secciones, durante la tramitación se utilizará el número de cliente. -----	
Número de cliente:	21559

Información sobre el solicitante

Esta información en la página de datos técnicos de la solicitud no reemplaza el cumplimiento de cualquier requerimiento de la parte 3 del art. 37 del CFR con referencia al registro de cesión en la Oficina. -----
Solicitante 1 -----
Esta sección no deberá ser completada si el solicitante es el inventor (o uno de los inventores conjuntos o inventores según 37 CFR 1.45). La información

a ser provista en esta sección es el nombre y la dirección del representante legal que es el solicitante de acuerdo con el 37 CFR 1.43, o el nombre y dirección del cesionario, persona a la cual el inventor esta obligado a ceder la invención, o persona que muestra poseer suficientes derechos sobre objeto que se solicita según 37 CFR 1.46. Si el solicitante es un solicitante de acuerdo con 37 CFR 1.46 (cesionario, persona a la cual el inventor esta obligado a ceder, o persona que demuestre suficientes derechos sobre el objeto) junto con uno o mas inventores conjuntos, entonces el inventor o inventores conjuntos, que también sean solicitantes, deberán ser identificados en esta sección. -----

Cesionario. -----

El cesionario es una empresa-----

Nombre de la empresa:	Alexo Therapeutics International
------------------------------	----------------------------------

Dirección postal

Dirección:	c/o Alexo Therapeutics, Inc. – 951 Gateway Blvd, Suite 201		
Ciudad:	South San Francisco	Estado:	CA
País:	EE.UU.	Código postal:	94080

Firmas

Se requiere la firma del solicitante o del representante de acuerdo con el art. 1.33 del CFR 37. Véase el art 1.4 (d) del CFR 37 con referencia al formato de la firma. -----

Nombre:	Michael J. Belliveau, Ph. D.
----------------	------------------------------

Número de matrícula:	52608	Fecha:	07/08/2015
-----------------------------	-------	---------------	------------

Esta información es requerida por el art. 1.76 del CFR 37. La misma es requerida para la obtención o mantenimiento de un beneficio relacionado con

la presentación de una solicitud (y su procesamiento por parte de USPTO). La confidencialidad se rige por el art 122 del USC 35 y 1.14 del CFR 37. Se estima que el llenado de la información insume 23 minutos. El tiempo variará según diferencias individuales. Cualquier comentario referido al tiempo requerido para completar este formulario y/o sugerencias que puedan facilitar su ejecución serán enviadas a Chief Information Officer, US Patent and Trademark Office. US Department of Commerce; PO Box 1450, Alexandria Va 22313-1450. No enviar aranceles o documentos con información a esta dirección. Envíense estos a: Commissioner for Patents, PO Box 1450 Alexandria VA 22313-1450. -----

LEY DE PRIVACIDAD

La Ley de Privacidad de 1974 (P.L. 93-579) requiere que se provea cierta información en relación con la presentación del formulario adjunto relacionado con una solicitud de patente o patente, De acuerdo con lo requerido por la Ley, le informamos que: (1) la autoridad general con respecto a la recopilación de esta información es U.S.C. 35 2 (b); (2) la presentación de la información es voluntaria; y (3) el propósito principal para el cual la Oficina de Patentes de los EE UU utilizará esta información es procesar y/o examinar la presentación de una solicitud de patente o patente, Si no se presentara la información requerida, existe la posibilidad de que a la Oficina de Patentes y Marcas no le sea posible procesar y/o examinar la presentación, lo cual puede tener como consecuencia la finalización de los procedimientos o el abandono de la solicitud o expiración de la patente.

La información provista por el solicitante en el presente formulario está

destinada normalmente a lo siguiente:

1. La información del presente formulario recibirá tratamiento confidencial en la medida que lo permita la Ley de Libertad de Información (552 del U.S.C. 5) y Ley de Privacidad (552a del U.S.C. 5), Los contenidos provenientes del sistema del registro pueden ser revelados al Departamento de Justicia a fin de determinar si la revelación de estos registros es requerida por la Ley de Libertad de Información;
2. Como procedimiento de rutina, es posible revelar un registro de este sistema de registros en el curso de la presentación de evidencia a una corte, magistrado o tribunal administrativo, incluyendo revelaciones al abogado oponente en el curso de las negociaciones;
3. Como procedimiento de rutina, es posible revelar un registro de este sistema de registros a un miembro de Congreso que presente una solicitud con referencia a un individuo al cual pertenecen los registros, cuando dicho individuo ha solicitado la colaboración del Miembro del Congreso con respecto al asunto al cual se refiere el registro;
4. Como procedimiento de rutina, es posible revelar un registro de este sistema de registros al un contratista de una Agencia que necesite de tal información a fin de redactar un contrato, Las personas que reciben la información deberán cumplir los requerimientos de la Ley de Privacidad de 1974, según sus enmiendas, de acuerdo con 552^a (m) del U.S.C.5;
5. Como procedimiento de rutina, es posible revelar a la Oficina de la Organización de la Propiedad Intelectual Mundial, una Solicitud Internacional presentada bajo el Tratado de Cooperación en Patentes que se encuentre en este sistema, de acuerdo con el Tratado de Cooperación en Patentes;

6. Como procedimiento de rutina, es posible revelar un registro de este sistema de registros a otra dependencia federal para revisión por motivos de Seguridad Nacional (181 U.S.C 35) y para revisión de acuerdo con la Ley de Energía Atómica (218 (c) U.S.C. 42;
7. Como procedimiento de rutina, es posible revelar un registro de este sistema de registros al Administrador de Servicios Generales o la persona designada por el mismo, durante una inspección de los registros realizada por GSA como parte de la responsabilidad de la institución de recomendar mejoras en las prácticas de manejo de los registros y programas, de acuerdo con 2904 y 2906 del U.S.C. 44, Tales revelaciones se realizarán de acuerdo con las leyes de GSA que gobiernan la inspección de registros con dicho propósito y otras directivas pertinentes (es decir, GSA o Comercio), Tales revelaciones no serán utilizadas para efectuar resoluciones con respecto a individuos;
8. Como procedimiento de rutina, es posible revelar un registro de este sistema de registros al público luego de la publicación de la solicitud de acuerdo con 122(b) del U.S.C. 35 o de la emisión de una patente de acuerdo con 151 del U.S.C. 35, Además, normalmente es posible revelar al público un registro, con las limitaciones impuestas por 1,14 del CFR 37, si el registro fue presentado en una solicitud luego abandonada o cuya tramitación ha finalizado y que es mencionada como referencia por una solicitud publicada, una solicitud abierta a la inspección del público o una patente emitida;
9. Como procedimiento de rutina, es posible que se revele un registro de este sistema de registros a una entidad reguladora o judicial, federal o local si la USPTO considera que existe una violación o violación potencial de una ley o reglamento.